



Ana Isabel Canas Ferreira Mingote
Licenciada em Engenharia Química

Bolachas de maçã biofortificadas em cálcio: formulação e análise nutricional

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Tecnologia e Segurança Alimentar

Orientador: Doutora Claudia Sánchez Lara, Investigadora
Auxiliar, Instituto Nacional de Investigação Agrária e
Veterinária

Co-orientador: Professora Doutora Maria Paula Amaro
de Castilho Duarte, Professora Auxiliar, Faculdade de
Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa

Júri:

Presidente: Prof. Doutora Benilde Simões Mendes – FCT/UNL
Arguente: Doutora Maria do Carmo Martins Serrano - INIAV
Vogal: Doutora Claudia Sánchez Lara – INIAV



FACULDADE DE
CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
UNIVERSIDADE NOVA DE LISBOA

Março de 2016



Ana Isabel Canas Ferreira Mingote
Licenciada em Engenharia Química

Bolachas de maçã biofortificadas em cálcio: formulação e análise nutricional

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Tecnologia e Segurança Alimentar

Orientador: Doutora Claudia Sánchez Lara, Investigadora
Auxiliar, Instituto Nacional de Investigação Agrária e
Veterinária

Co-orientador: Professora Doutora Maria Paula Amaro
de Castilho Duarte, Professora Auxiliar, Faculdade de
Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa



FACULDADE DE
CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
UNIVERSIDADE NOVA DE LISBOA

Março de 2016

COPYRIGHT

Copyright © - Todos os direitos reservados. Ana Isabel Canas Ferreira Mingote. Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa.

“Bolachas de maçã biofortificadas em cálcio: formulação e análise nutricional”

A Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova e Lisboa e a Universidade Nova de Lisboa têm o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicar esta dissertação através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, e de a divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objectivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.

AGRADECIMENTOS

Depois desta dissertação terminada, quase poderia escrever uma outra em agradecimentos. Sei que tenho muito o que e muitas pessoas a quem agradecer. Espero não me esquecer de ninguém e peço desculpa desde já se acontecer.

Agradeço à Professora Doutora Benilde Mendes, coordenadora do Mestrado em Tecnologia e Segurança Alimentar por ter aprovado o tema desta Dissertação.

À minha orientadora, Doutora Claudia Sánchez Lara do Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária agradeço por me ter lançado este desafio e ter confiado em mim para a concretização deste trabalho. Agradeço a sua orientação e disponibilização de todos os meios físicos e intelectuais necessários para que a sua concretização fosse possível. Agradeço ainda a amizade, o apoio, a disponibilidade, o carinho e o profissionalismo com que sempre me acompanhou e que lhe são intrinsecamente característicos.

À minha co-orientadora, Professora Doutora Maria Paula Amaro de Castilho Duarte da Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa, pela sua sempre disponibilidade, pelas suas boas ideias e sugestões na resolução dos problemas, pelos seus ensinamentos e pela sua amizade, carinho e compreensão. Obrigada também por não ter desistido de mim.

Agradeço à empresa Condi Alimentar S A., ao Sr João Pires e ao Sr. Luis Pires por ter tornado possível a realização deste trabalho aceitando esta colaboração. Obrigada pelo carinho com que fui recebida por todos os colaboradores e pela disponibilização de todos os meios físicos e intelectuais. Um obrigada muito especial à minha querida amiga Carla Patrícia Almeida, colaboradora desta empresa, pelo profissionalismo, pela grande capacidade de trabalho e resolução de problemas, pela sempre disponibilidade, amizade e boa disposição. Agradeço também à Margarida Branco e aos colaboradores que muito generosamente se disponibilizaram para que a realização da prova sensorial fosse possível.

A todas as pessoas que de uma forma prática estiveram diretamente envolvidas na realização deste trabalho e/ou que com pequenas ações o tornaram mais fácil de realizar. Á Paula Ramos, ao Mário Santos, à Professora Ana Luísa Fernando, ao Bruno Barbosa, à D. Rita, à Sara Boléu, à Maria Marquito e à Isabel Pais. Também aos colaboradores do Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária pela participação na prova de análise sensorial um muito obrigada.

Agradeço ao Colégio Pinguças por terem colaborado, tornando possível a realização de uma prova sensorial com as crianças do Jardim de Infância, particularmente à Isabel Batista e à educadora Ana Gabinete.

A todos os meus amigos e colegas de trabalho e mestrado um obrigada por todo o carinho e amizade.

Agradeço, do fundo do meu coração à Diretora da Infantil do colégio Planalto, Dra Margarida dos Santos Garcia por ter permitido, com a sua grande generosidade, a finalização desta dissertação. Agradeço também à minha amiga Maria Correia de Campos, secretária da Direção deste colégio, toda a amizade, carinho e disponibilidade para tornar possível a finalização deste trabalho.

Com uma gratidão que me emociona agradeço à minha querida amiga Ângela Santa Maria por ter lutado por mim, por ter acreditado em mim e por ter lutado pela concretização desta dissertação, por me ter feito compreender que devemos ter a humildade de nos deixarmos ajudar. Agradeço ainda por me ensinar e ajudar, num percurso diário, a querer ser uma pessoa melhor.

Agradeço à minha querida amiga Mónica Cayolla Pinto, por me ter mostrado e colocado num caminho que tinha já esquecido que existia e com isso no caminho para a concretização e finalização deste trabalho.

Aos meus irmãos Paula e Luis Pedro e cunhados Marta e Pedro agradeço o apoio, a amizade e a ajuda prática nas questões familiares para que tivesse disponibilidade para acabar de escrever esta dissertação.

Agradeço à minha querida mãe por ser a minha luzinha lá no céu e estar sempre comigo certificando-se de que há sempre uma solução e uma força extra para continuar.

Por último, mas não menos importante, um enorme agradecimento ao meu marido António Pedro d'Águiar Carneiro pelo seu incondicional apoio, incentivo e amor não só durante a realização deste mestrado bem como em toda a nossa vida. Obrigada por me fazer querer ser uma pessoa melhor, por fazer de mim uma mulher muito feliz e por tudo mais. Obrigada também pelos nossos lindos filhos Manuel Mingote d'Águiar Carneiro e Maria Mingote d'Águiar Carneiro a quem também tenho de agradecer por me completarem e ajudarem a querer ser um bocadinho melhor todos os dias.

OBRIGADA MEU DEUS POR TERES PERMITIDO QUE, PELA TUA MÃO, A MINHA FIZESSE TUDO ISTO.

MUITO OBRIGADA!

RESUMO

A epiderme da maçã biofortificada, rica em compostos antioxidantes, fibra dietética e cálcio proveniente do processo de biofortificação, é um subproduto da indústria de polpas e néctares com um elevado valor tecnológico e nutricional e com potencial para ser usado de um modo sustentável no desenvolvimento de novos produtos.

Este subproduto foi utilizado para a produção de uma farinha e posterior utilização como ingrediente substituinte da farinha de trigo em preparados para elaboração de bolachas de maçã biofortificadas em cálcio. As análises físico-químicas e sensoriais realizadas demonstraram que um preparado de bolachas contendo 25% de farinha de maçã apresenta um teor de fibra dietética de 4 g /100 g de produto, enquanto no preparado controlo, não contendo este novo ingrediente, não foi detetada a presença de fibra dietética. O teor de compostos fenólicos é também superior em quase 80% nos preparados contendo farinha de maçã (110 mg EAG/100 g de produto) comparativamente com o teor determinado no preparado controlo (24 mg EAG/100 g de produto). Comprovou-se ainda que os preparados de bolacha contendo farinha de maçã biofortificada em cálcio têm um teor deste mineral superior, em cerca de 15% a 25%, aos preparados contendo farinha de maçã não biofortificada e ao controlo. A análise sensorial realizada indicou que, para além das mais-valias nutricionais, a presença da farinha de maçã representa também uma melhoria substancial das características organolépticas do produto.

Conclui-se que a substituição parcial da farinha de trigo e milho, normalmente utilizada neste tipo de produtos alimentares, pela farinha de maçã biofortificada em cálcio representa uma adição de valor quer nutricional, com efeitos benéficos para a saúde, quer sensorial ao preparado de bolachas dando origem a um novo produto alimentar.

PALAVRAS CHAVE: Sustentabilidade; Desenvolvimento de novos produtos; Epiderme de maçã; Fibra dietética; Compostos fenólicos; Cálcio

ABSTRACT

The biofortified apple peel, rich in antioxidants, dietary fiber and calcium from the biofortification process, is a by-product of pulps and nectars industry with a high technological and nutritional value and potential to be used in the development of new products in a sustainable way.

This by-product was used for the production of a flour and subsequent used as a replacement ingredient for wheat flour in the preparation for baking of calcium biofortified apple biscuits. The physico-chemical and sensorial analysis demonstrated that a preparation of biscuits containing 25% apple flour has a dietary fiber content of 4 g/100 g of product while in the preparation control, not containing this new ingredient, the presence of dietary fiber was not detected. The content of phenolic compounds is also higher by almost 80% for preparations containing apple flour (110 mg EAG/100 g product) compared with the control (24 mg EAG/100 g product). It was shown that the prepared biscuit containing calcium biofortified apple flour have a higher content of this mineral, of about 15% to 25%, than those preparations containing not biofortified apple flour and control. The sensory analysis indicated that, in addition to the nutritional gains, the presence of apple flour is also a substantial improvement of the organoleptic characteristics of the product.

It is concluded that the partial replacement of wheat and corn flour commonly used in this type of food, by the calcium biofortified apple flour is an added value both, nutritionally, with beneficial effects for health, and sensorially to the preparation of crackers, giving rise a new food product.

KEY WORDS: Sustainability; Development of new products; Apple peel; Dietary fiber; Phenolic compounds; Calcium

ÍNDICE GERAL

| | | |
|-------|--|----|
| 1 | Introdução | 1 |
| 1.1 | Sustentabilidade Alimentar e Desenvolvimento de Novos Produtos | 1 |
| 1.2 | Biofortificação vs suplementação de produtos alimentares | 5 |
| 1.3 | Importância das fibras, antioxidantes e do cálcio na alimentação | 7 |
| 1.3.1 | Fibras | 7 |
| 1.3.2 | Antioxidantes | 10 |
| 1.3.3 | Cálcio | 12 |
| 1.4 | Maçã (Diversidade, Produção, Factores de qualidade, Composição química e valor nutricional, Propriedades funcionais) | 15 |
| 1.4.1 | Produção e Diversidade | 15 |
| 1.4.2 | Factores de Qualidade | 16 |
| 1.5 | Enquadramento e Objectivo | 20 |
| 1.5.1 | Apresentação do Produto | 21 |
| 1.5.2 | Público-alvo | 21 |
| 2 | Materiais e Métodos | 23 |
| 2.1 | Amostras | 23 |
| 2.1.1 | Farinhas de Maçã | 23 |
| 2.1.2 | Formulação dos Preparados | 24 |
| 2.1.3 | Elaboração das Bolachas de Maçã | 24 |
| 2.2 | Parâmetros Físico-Químicos | 24 |
| 2.2.1 | Humidade | 24 |
| 2.2.2 | Cinza | 25 |
| 2.2.3 | Proteína | 25 |
| 2.2.4 | Gordura | 25 |
| 2.2.5 | Açúcares | 26 |
| 2.2.6 | Fibras | 26 |
| 2.2.7 | Minerais | 27 |
| 2.2.8 | Compostos fenólicos | 27 |
| 2.2.9 | Ácido Ascórbico | 28 |
| 2.3 | Parâmetros energéticos | 28 |
| 2.4 | Análise Sensorial | 28 |
| 2.4.1 | Prova Efetiva | 28 |
| 2.4.2 | Prova de Diferença-do-Controlo | 29 |
| 2.4.3 | Controlo de Qualidade dos preparados de bolacha | 29 |
| 2.5 | Análise Estatística | 29 |
| 2.6 | Rotulagem Técnica | 30 |
| 3 | Resultados e Discussão | 31 |
| 3.1 | Amostras | 31 |
| 3.1.1 | Farinhas de Maçã - Elaboração | 31 |
| 3.1.2 | Preparados - Formulação | 33 |
| 3.1.3 | Bolachas de Maçã - Confeção | 34 |

| | | |
|-------|--|----|
| 3.2 | Parâmetros Físico-Químicos | 35 |
| 3.2.1 | Humidade, Cinza e Proteína | 35 |
| 3.2.2 | Gordura | 37 |
| 3.2.3 | Açúcares..... | 37 |
| 3.2.4 | Fibras..... | 38 |
| 3.2.5 | Minerais | 40 |
| 3.2.6 | Compostos Fenólicos e ácido ascórbico | 43 |
| 3.3 | Parâmetros Energéticos | 44 |
| 3.4 | Análise Sensorial..... | 45 |
| 3.4.1 | Prova Efetiva | 45 |
| 3.4.2 | Avaliação da intenção de compra | 47 |
| 3.4.3 | Prova sensorial - Crianças | 48 |
| 3.4.4 | Prova de Diferença-do-Controlo..... | 48 |
| 3.5 | Controlo de Qualidade dos preparados de bolacha..... | 49 |
| 3.6 | Embalagem e Rótulo do produto final | 52 |
| 4 | Conclusão e Perspectivas Futuras | 55 |
| 5 | Referências Bibliográficas..... | 57 |
| 5.1 | Legislação | 61 |
| 6 | Anexos | 63 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| FIGURA 1.1- Esquema representativo da definição de fibra dietética. Esquema elaborado com base na descrição feita por Ötles e Ozgoz, 2014. | 8 |
| FIGURA 3.1 - Aspeto visual das farinhas produzidas a partir das maçãs <i>Golden Delicious</i> após secagem. | 32 |
| FIGURA 3.2 - Teste de preferência das bolachas elaboradas sem farinha de maçã (A), com farinha de maçã comercial (B) e com farinha de maçã TB (C)..... | 46 |
| FIGURA 3.3 - Teste de aceitação (A) e intenção de compra/recomendação das bolachas sem farinha de maçã, com farinha de maçã comercial e com farinha de maçã TB. | 47 |
| FIGURA 3.4 - Prova sensorial realizada a um painel de provadores não treinados com idades compreendidas entre os 3 e os 5 anos de idade.. | 48 |
| FIGURA 3.5 – Avaliação de preparados de bolachas frescos e armazenado por um período de 6 meses. | 49 |
| FIGURA 3.6 – Aspeto visual das embalagens contendo a formulação dos preparados de bolacha de maçã, da respectiva formulação e da bolacha obtida por confeção dessa preparação, fresca e com um tempo de seis meses de armazenamento em local seco e fresco. | 51 |
| FIGURA 3.7 – Aspeto visual final sugerido para a embalagem e rótulo do preparado de bolachas de maçã biofortificadas em cálcio.. | 53 |

ÍNDICE DE TABELAS

| | |
|--|----|
| TABELA 3.1 – Quantidade em peso (g) e em percentagem de massa (%) de cada ingrediente utilizado na formulação do preparado de bolachas de maçã e no preparado controlo sem farinha de maçã..... | 34 |
| TABELA 3.2 - Humidade, Cinzas e Proteína Bruta (%) nas amostras de farinha de maçã comercial, TC, TA, TB e nas respetivas amostras de preparados de bolachas. | 36 |
| TABELA 3.3 - Teor de gordura (g/100g) estimado com base nos teores de gordura dos ingredientes constituintes do preparado de bolachas de maçã..... | 37 |
| TABELA 3.4 - Composição em açúcares nas amostras de farinha de maçã comercial, TC, TA, TB e nas respetivas amostras de preparados de bolachas. (g/100g). | 38 |
| TABELA 3.5 - Teor de fibra dietética total (FDT) nas amostras de farinha de maçã e preparados de bolacha de maçã (%). | 39 |
| TABELA 3.6 – Teor de minerais (zinco, ferro, magnésio, potássio, cálcio, sódio e manganês) nas amostras de farinha de maçã comercial, TC, TA, TB e nas amostras de preparados de bolachas com farinha de maçã comercial, TC, TA, TB e sem farinha de maçã (mg/100g). | 42 |
| TABELA 3.7 - Teor de fenólicos totais expresso em mg de EAG/ 100g de peso seco. | 43 |
| TABELA 3.8 – Teor energético em Kcal e KJ por 100g de produto | 44 |

ABREVIATURAS

AVC - acidente vascular cerebral

EAG – Equivalentes de ácido gálico

FAO - Organização para a Agricultura e Alimentação

FDT- Fibra dietética total

INSA – Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge

T comercial - Farinha de maçãs comercial

TA - Farinha de maçã com tratamento com nitrato de cálcio

TB - Farinha de maçã com tratamento com cloreto de cálcio

TC - Farinha de maçã com tratamento convencional

1 INTRODUÇÃO

1.1 SUSTENTABILIDADE ALIMENTAR E DESENVOLVIMENTO DE NOVOS PRODUTOS

A constante necessidade de inovar e surpreender o consumidor com a apresentação de novos produtos na área alimentar é já uma prática bastante comum na maioria das Indústrias deste sector, no entanto a sua conjugação com desenvolvimento sustentado é ainda um grande desafio. Na realidade, a sustentabilidade aliada aos alimentos data de há cerca de 30 anos quando o desenvolvimento sustentado se tornou objecto de política em diversos países. De facto, analisando a questão em profundidade, o conceito de desenvolvimento sustentável faz ainda mais sentido quando se fala em produção e consumo de alimentos, uma vez que uma grande quantidade de água e energia são consumidas na alimentação (Aiking e Boer, 2004).

Interessa, antes de mais, definir desenvolvimento sustentado uma vez que é um conceito abrangente e dinâmico que tem vindo a evoluir ao longo dos anos. O desenvolvimento sustentado é, assim, a capacidade de a humanidade satisfazer as necessidades das gerações presentes sem comprometer a capacidade das gerações futuras satisfazerem as suas (Brundtland, 1987). Este conceito engloba, portanto, aspectos sociais, económicos e ecológicos de sustentabilidade. No entanto, para muitos autores esta é considerada uma definição muito vasta pois não é específica no que respeita a alguns aspectos, nomeadamente a processos de desenvolvimento ou de produção, isto é, não determina, por exemplo, se a longo prazo será mais vantajosa a substituição completa de um determinado produto ou a melhoria do seu processo de produção (Aiking e Boer, 2004).

Tilman e colaboradores (2002) afirmam ainda que a sustentabilidade é um requisito dinâmico, cujo principal desafio a nível mundial, se prende com uma produção de alimentos que faça face ao crescimento populacional em simultâneo com o alívio da pressão ambiental na sua produção.

A sustentabilidade, de acordo com Bonini e colaboradores (2010), parece exercer uma importância fundamental em diversas áreas do sector empresarial, tais como no desenvolvimento de novos produtos, no desenvolvimento da reputação das empresas e na estratégia da empresa como um todo. No entanto, a abrangência do conceito e consequente desconhecimento acarreta ainda grandes divergências na compreensão entre produtores e consumidores, que conduzem à má reputação de muitas empresas. Enquanto para muitas empresas a sustentabilidade implica termos como "ecologicamente correto, economicamente viável e socialmente aceitável", para a maioria dos consumidores o termo é interpretado de um modo simplista e associado apenas à noção de "verde e bom" (Kloppenburger *et al.*, 2000).

Um passo importante para a prática de negócio sustentável é a conceção e desenvolvimento de uma ferramenta de medição baseada num sistema de informações sobre sustentabilidade na produção de um determinado produto. Dado que a produção de

desperdícios alimentares engloba todo o ciclo de vida de um produto, desde a fase agrícola, passando pelo processamento e produção industrial, terminando na distribuição e desperdício doméstico, esta pode ser uma técnica importante para avaliar os potenciais impactos ambientais associados com o fabrico de um produto (Aiking e Boer, 2004; Mirabella *et al.*, 2014).

Para a produção de um género alimentício muitos processos podem ocorrer em várias empresas formando um sistema de produção que gera uma grande variedade de impactes. Tendencialmente, as práticas de sustentabilidade tendem a concentrar-se numa só empresa em vez de em todo o sistema de produção o que acarreta grandes desvantagens como o investimento de grandes esforços para obtenção de apenas pequenas melhorias (Gerbens-Leenes *et al.*, 2003).

Gerbens-Leenes e colaboradores (2003) propõem um método de medição para a sustentabilidade ambiental em sistemas de produção de alimentos uma vez que, do seu ponto de vista, a investigação nesta área tende a ignorar interações. O autor considera que a sustentabilidade na produção alimentar deve resultar da interacção de três indicadores: a utilização de água, de terra e de energia. Para tal, o autor, avalia a sustentabilidade ambiental do processo nas empresas envolvidas, calcula a sustentabilidade do sistema de produção e identifica os efeitos ambientais relacionados com a produção de alimentos. Deste modo, o desempenho empresarial sustentável abrange todas as empresas que contribuem para um sistema de produção. Os dados gerados podem ser usados por parte das empresas, para comparar as tendências ao longo do tempo e para comparar resultados com metas previamente definidas. Os consumidores podem usar estes mesmos dados para comparar os efeitos ambientais de diversos alimentos.

Uma elevada quantidade de material desperdiçado é anualmente gerado nas actividades agrícolas e no processamento dos produtos daqui provenientes. Sob uma perspectiva de sustentabilidade, existe já uma extensa investigação, no sentido de transformar estes desperdícios em potenciais matérias-primas para produtos de valor acrescentado como, por exemplo, a produção de bioetanol (Van Dyk *et al.*, 2012). Por outro lado, a indústria alimentar produz também grandes volumes de resíduos sólidos e líquidos, decorrentes da produção, preparação e consumo de alimentos. Estes resíduos reflectem cada vez mais, problemas graves de poluição e representam uma perda significativa e valiosa de nutrientes e biomassa, uma vez que a sua recuperação, reciclagem e reutilização é ainda deficientemente praticada (Laufenberg *et al.*, 2003).

O desperdício alimentar é, deste modo, um tema de grande preocupação mundial, dado que uma grande quantidade de alimentos que deveriam ter como finalidade o consumo, está a ser desperdiçado. Isso representa não só um problema de recursos, mas também um desafio económico, moral e ambiental para a sociedade moderna (Mirabella *et al.*, 2014). Por esta razão, e do ponto de vista da sustentabilidade alimentar, surgiram, nos últimos anos, diversos estudos com o intuito de transformar estes resíduos em produtos comerciais como, matéria-

prima para processos secundários, fontes de energia para operações industriais ou mesmo ingredientes de novos produtos (Laufenberg *et al.*, 2003; Mirabella *et al.*, 2014).

No entanto, e dado que as práticas atuais de controlo de poluição e resíduos não correspondem, ainda, às exigências ambientais, é pois necessário que as indústrias envolvam no seu processo de produção a optimização da protecção ambiental e o planeamento, investigação e desenvolvimento estratégico do produto, com a finalidade de uma produção limpa. Segundo a organização não-governamental Greenpeace o objectivo de uma produção limpa é o cumprimento das necessidades actuais de forma sustentada, isto é, usando materiais renováveis não perigosos e energia de forma eficiente enquanto se preserva a biodiversidade (Laufenberg *et al.*, 2003).

O desenvolvimento e aplicação de processos de produção mais eficientes, a agregação de valor aos subprodutos e o desenvolvimento de novos produtos são exemplos de objectivos no desenvolvimento de processos de produção limpa (Laufenberg *et al.*, 2003).

Mais ainda, o conceito de simbiose industrial prevê a utilização dos resíduos produzidos por um sector como matéria-prima para outro sector, com o propósito de alcançar o “desperdício zero”. No caso da indústria alimentar, muitos dos resíduos produzidos têm um elevado potencial para serem reutilizados em outros sistemas de produção como, por exemplo em bio-refinarias (Mirabella *et al.*, 2014)

Mirabella e colaboradores (2014) realizaram uma extensa revisão bibliográfica, abrangendo os desperdícios alimentares, ou mais correctamente, subprodutos provenientes das actividades industriais na secção dos vegetais e frutos, produtos lácteos e carnes e derivados. Esta revisão bibliográfica incluiu o estudo das distintas possibilidades de transformação destes resíduos em recursos para a produção de novos produtos alimentares, aplicação de ecologia industrial e abordagens de eco inovação.

Uma das categorias mais interessantes como fonte de recursos alimentares e consequente diminuição do impacte ambiental é a dos frutos e vegetais. Isto deve-se ao facto de os subprodutos gerados serem ricos em ingredientes como antioxidantes e fibras dietética e os tecidos que os compõem permitirem a sua extracção e separação (Galanaskis, 2012).

Uma vez que estes subprodutos podem conter elevadas concentrações de nutrientes e água, e portanto suportar o crescimento microbiano e fermentação, a sua deposição em aterro pode causar odores e outros problemas ambientais para além dos custos associados. Outra finalidade para estes desperdícios é a alimentação animal, no entanto, o baixo teor de proteína que muitas vezes caracteriza estes resíduos, torna-os desadequados para este fim (Van Dyk *et al.*, 2012).

Uma solução mais interessante do ponto de vista da sustentabilidade para os subprodutos criados pela indústria alimentar é a obtenção de produtos de valor acrescentado como compostos bioactivos e nutracêuticos que podem ser usados como matérias-primas de outros processos industriais (Aguedo *et al.*, 2012; Galanaskis, 2012). Por outro lado os aditivos alimentares sintéticos são cada vez mais rejeitados pelos consumidores sendo uma vantagem a obtenção destes componentes a partir de fontes naturais (Schieber *et al.*, 2001). Alguns

exemplos destes compostos são as pectinas, que tem uma elevada utilidade na indústria alimentar pelas suas propriedades gelificantes; a fibra dietética que pode ser extraída de muitos resíduos alimentares e que tem diversas aplicações uma vez que o seu consumo é importante para a prevenção de inúmeras doenças (Aguedo *et al.*, 2012); os compostos fenólicos que se encontram em desperdícios de diversos frutos e vegetais e que são igualmente benéficos na prevenção de algumas doenças e o licopeno, presente na pele do tomate, que constitui muitas vezes um subproduto da indústria deste sector, e que é conhecido pelo seu poder antioxidante (Van Dyk *et al.*, 2012).

Uma das indústrias alimentares, que importa salientar, é a indústria de sumos de fruta e derivados como os néctares e polpas dado a sua crescente popularidade nos últimos anos (Schieber *et al.*, 2001). Por exemplo, a indústria de transformação de maçã produz uma enorme quantidade de desperdícios alimentares com interesse industrial. Estes resíduos incluem geralmente uma mistura heterogénea de pele, sementes e bagaço, rica em pectinas, compostos fenólicos e fibras e que representa cerca de 25% da maçã utilizada (Schieber *et al.*, 2001; Mirabella *et al.*, 2014).

Diversos autores têm vindo a estudar possíveis utilidades para estes subprodutos. Wolfe e Liu (2003) desenvolveram um ingrediente a partir da pele de maçã da variedade '*Rome Beauty*', baseado nas propriedades antioxidantes conferidas pelo elevado teor em compostos fenólicos presente neste subproduto. Outro estudo, baseado nas mesmas propriedades antioxidante da pele de diversas maçãs, foi realizado por Huber e Rupasingh (2009) com o intuito de prevenir a oxidação lipídica em alimentos preservando assim a sua qualidade. Também Henriquez e colaboradores (2010) desenvolveram um ingrediente a partir da pele de maçã da variedade '*Granny Smith*' para ser usado na preparação de alimentos como fonte de compostos fenólicos e fibra dietética. Já Rupasingh e colaboradores (2008) adicionaram pó de pele de maçã a *muffins* com o objectivo de melhorar o seu conteúdo em compostos fenólicos e antioxidantes e concluíram que substituindo a farinha por este produto em 16% obtinham um produto final com uma melhor avaliação sensorial.

Apesar dos inúmeros estudos no sentido de transformar e utilizar os subprodutos da indústria alimentar, é necessário um investimento na investigação e desenvolvimento de modo a que se obtenham produtos de elevado valor acrescentado que justifiquem os custos associados ao seu processamento. Esta investigação deve incluir a identificação do tipo e quantidade de resíduos, o potencial para a exploração e a localização geográfica dos produtores e dos potenciais compradores dos produtos finais. Estas avaliações são necessárias para estimar também a sustentabilidade de todo o processo proposto para a recuperação e assim evitar o risco de encargos e a mudança de resíduos de um meio para outro (Mirabella *et al.*, 2014).

Adicionalmente, o risco de manipulações excessivas e modificação de produtos alimentares, pode também ser crítico e em alguns casos ser prejudicial à saúde do consumidor, razão pela qual a sua investigação não deve ser descuidada (Mirabella *et al.*, 2014).

1.2 BIOFORTIFICAÇÃO VS SUPLEMENTAÇÃO DE PRODUTOS ALIMENTARES

A deficiência em algumas vitaminas e minerais é um problema que afecta cerca de metade da população mundial atingindo com maior incidência mulheres e crianças (Nestel *et al.*, 2006). Adicionalmente, uma previsão da Organização para a Agricultura e Alimentação (FAO) estima um aumento significativo da população mundial e prevê a necessidade de um aumento da produção alimentar em cerca de 70% em 2050. No entanto, a disponibilidade de terra cultivável tem vindo a diminuir e a já existente tem vindo a mostrar sinais de degradação o que se reflecte numa preocupação focada, não apenas na produção agrícola em quantidade, mas também em qualidade, isto é, uma produção de alimentos ricos nutricionalmente (Saltzman *et al.*, 2013).

Com o objectivo de fazer face a este défice nutricional e consequente problema de saúde pública, desenvolveram-se processos de suplementação e fortificação de alimentos. Mais, recentemente, dado que os alimentos à base de plantas são uma das principais fontes nutricionais e dada a necessidade de melhorar significativamente o estado nutricional das populações, uma nova abordagem tem sido adoptada, a da biofortificação (Carvalho e Vasconcelos, 2013).

A fortificação consiste na adição física de determinados micronutrientes aos alimentos durante o seu processamento e a suplementação na administração de formas farmacêuticas (cápsulas, comprimidos, suspensões, etc.) contendo um nutriente específico a um grupo de indivíduos com défice nesse mesmo nutriente (Meenakshi *et al.*, 2010). Já a biofortificação é o desenvolvimento de culturas básicas enriquecidas em micronutrientes usando práticas tradicionais de melhoramento juntamente com a biotecnologia moderna. O objectivo da biofortificação é aumentar o teor de micronutrientes nas culturas de forma sustentável resultando numa maior ingestão por parte dos consumidores. No entanto, não se espera que esta intervenção elimine ou trate, por si só, as deficiências de micronutrientes em toda a população (Nestel *et al.*, 2006; Saltzman *et al.*, 2013). Mesmo não fornecendo um nível tão elevado de minerais e vitaminas por dia como os suplementos ou alimentos enriquecidos industrialmente, os alimentos biofortificados ajudam a aumentar a ingestão diária de uma quantidade considerável de micronutrientes, por parte de toda a família, através do consumo diário de alimentos considerados básicos. Este pode ser um meio viável de se chegar a populações mal nutridas com acesso limitado a algumas dietas, suplementos e alimentos fortificados industrialmente.

Por outro lado, a biofortificação parece contribuir, igualmente, para o aumento da produtividade agrícola uma vez que os minerais são essenciais no combate a doenças e condições de *stress* ambiental para além de se poder verificar uma maior taxa de sobrevivência das sementes e um mais rápido crescimento inicial das culturas (Nestel *et al.*, 2006).

Actualmente existem três principais estratégias para a biofortificação de culturas alimentares todas com resultados comprovados na melhoria nutricional dos alimentos: a biofortificação agronómica, o cruzamento convencional de plantas e a engenharia genética (Carvalho e Vasconcelos, 2013; Saltzman *et al.*, 2013).

A biofortificação agronômica foca-se na aplicação de fertilizantes minerais, no aumento da solubilização e na mobilização desses minerais no solo. Esta técnica apenas pode ser usada para fortificar as culturas em nutrientes minerais e não em nutrientes orgânicos como é o caso das vitaminas. Para além deste facto, também a composição do solo e a mobilidade e acumulação dos minerais nesse mesmo solo são factores que intervêm e ditam o sucesso ou não do processo de biofortificação. Deste modo, apenas os minerais que têm boa mobilidade no solo e na planta são considerados bons candidatos a este processo não podendo, por isso, ser esta estratégia considerada universal. Por exemplo, enquanto o uso de fertilizantes inorgânicos de iodo (I) e zinco (Zn) tiveram um impacto muito positivo no aumento da concentração destes minerais em culturas na China e na Tailândia respectivamente, fertilizantes inorgânicos de ferro (Fe) não apresentaram grande efeito. Este resultado deve-se à baixa mobilidade do Fe que na forma de sulfato de ferro estabelece uma rápida ligação com partículas do solo e se converte no íão Fe (III) ficando indisponível para a raiz da planta (Meenakshi *et al.*, 2009; White e Broadley, 2009; Carvalho e Vasconcelos, 2013). Nestes casos, a aplicação foliar do fertilizante, isto é a pulverização nas folhas para que possam ser absorvidos e transportados para outras partes do vegetal, pode ser uma alternativa. Este processo é muito usado em casos de distúrbios causados por deficiência em cálcio ou para aplicação de sulfato de magnésio em diversas culturas uma vez que estes são minerais de baixa mobilidade nas plantas (Dayod *et al.*, 2010). Outra forma de colmatar este problema é o uso de agentes quelantes, como o EDTA, para melhorar a eficiência dos fertilizantes aplicados em solos deficientes (Meenakshi *et al.*, 2009; White e Broadley, 2009; Carvalho e Vasconcelos, 2013).

O cruzamento convencional consiste no cruzamento, por várias gerações, de linhagens parentais com altos níveis de vitaminas e minerais para produzir plantas que têm o nutriente e as características agronômicas desejadas. Depois de, nos últimos anos e de modo a fazer face ao crescimento populacional, a produtividade das culturas ter aumentado, observou-se, como consequência, a diminuição da concentração de minerais presentes nas mesmas. Esta estratégia de biofortificação veio trazer a vantagem de aumentar a resistência das culturas a pragas, doenças e tolerância a condições de *stress*, como a seca e a salinidade, reflectindo-se num aumento benéfico do rendimento e da concentração de minerais consumíveis presentes nas culturas. Adicionalmente, este tipo de biofortificação apenas envolve um único investimento inicial uma vez que as sementes resultantes da cultura inicial podem ser colhidas e usadas nos anos seguintes sendo, por isso, considerada como uma estratégia mais vantajosa para aumentar a concentração de micronutrientes nos tecidos comestíveis das plantas. No entanto, a dependência da disponibilidade de minerais no solo e o longo tempo necessário para o seu desenvolvimento são um inconveniente deste processo (Carvalho e Vasconcelos, 2013).

Quando os nutrientes não existem naturalmente na cultura, a estratégia adoptada é a engenharia genética, que promete, num futuro próximo, abrir novas oportunidades no campo da biofortificação pois a inovação de ferramentas moleculares e consequente sequenciação total de genomas é uma constante. No entanto, esta deve ser complementada com o

cruzamento convencional uma vez que depois da obtenção de uma cultura geneticamente modificada são necessários vários anos para assegurar que os genes estão bem incorporados (Carvalho e Vasconcelos, 2013; Saltzman *et al.*, 2013). Aqui, para além do aumento da concentração ou da acumulação de micronutrientes, a estratégia pode ser a incorporação de substâncias promotoras ou a remoção de anti-nutrientes. Apesar de ser uma estratégia bastante prometedora, esta estratégia enfrenta uma baixa aceitação por parte dos consumidores, principalmente na Europa, e um problema jurídico de legalização complexo que se prende com preocupações ambientais provenientes da transferência de genes inseridos para culturas não-alvo (Carvalho e Vasconcelos, 2013). Esta rejeição torna-se mais evidente em alimentos cujo processo de biofortificação induz alterações sensoriais nomeadamente na cor dos alimentos (Nestel *et al.*, 2006).

De entre outros minerais como o ferro, o zinco, o cobre e o Magnésio, o cálcio é um dos minerais com maior lacuna de consumo na dieta humana (White e Broadley, 2009). Depois dos produtos lácteos os alimentos à base de plantas são os que oferecem um maior contributo para a ingestão de cálcio e, por essa razão, diversas culturas alimentares têm sido alvo de estratégias de biofortificação com a finalidade de aumentar o consumo deste mineral.

Apesar das inúmeras vantagens associadas à biofortificação, a abordagem ideal parece ser a utilização combinada deste processo com a suplementação, fortificação e a dieta diversificada. A fusão mais adequada e adoptada deve ser alvo de um programa implementado e mantido por cada país individualmente de modo a corresponder às suas necessidades nutricionais (Saltzman *et al.*, 2013).

1.3 IMPORTÂNCIA DAS FIBRAS, ANTIOXIDANTES E DO CÁLCIO NA ALIMENTAÇÃO

Existem naturalmente nos alimentos, compostos que por si só, têm um efeito positivo na saúde do consumidor, conferindo-lhes propriedades adicionais para além da simples função de alimentar. São exemplos de compostos que lhes conferem estas propriedades as fibras, os antioxidantes e minerais como o cálcio.

1.3.1 FIBRAS

As fibras são compostos que podem variar muito relativamente à sua estrutura, à sua função e à sua necessidade de consumo. No entanto, para que possam ter um efeito benéfico para a saúde do consumidor, cada uma delas deve estar presente na alimentação nas quantidades adequadas (Jones, 2014). A fibra dietética consiste num grupo de polímeros de hidratos de carbono que não são nem digeridos pelas enzimas digestivas nem absorvidos pelo trato gastrointestinal. Dentro da fibra dietética podem distinguir-se as fibras solúveis em água, com capacidade de formação de géis, e as fibras insolúveis, que não têm esta capacidade (Figura 1) (Ötles e Ozgoz, 2014).

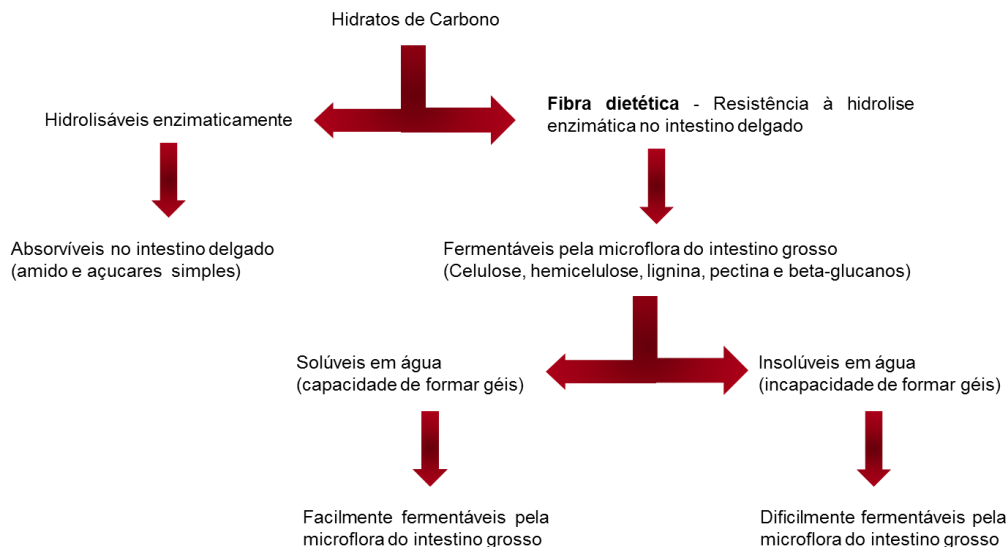


FIGURA 1.1- Esquema representativo da definição de fibra dietética. Esquema elaborado com base na descrição feita por Ötles e Ozgoz, 2014.

A importância do consumo deste tipo de compostos provém dos vários benefícios que exercem ao nível da saúde do consumidor. A diminuição da pressão arterial, o controlo dos níveis de glucose no sangue, a regulação dos níveis séricos de lípidos (colesterol), a regulação do trânsito intestinal, o auxílio na perda de peso, o melhoramento da função imunológica e efeito positivo na biodisponibilidade do cálcio são alguns destes benefícios. Como consequência destes efeitos verifica-se que o consumo de fibras pode ajudar a diminuir o risco de doenças como doença cardíaca coronária, acidente vascular cerebral (AVC) hipertensão, diabetes, obesidade e muitas doenças do foro gastrointestinal, como hemorróidas, cancro do cólon e do intestino, apendicites, refluxo, doença da vesícula biliar, obstipação, etc. Mais ainda, muitos compostos integrantes deste grupo de componentes podem ajudar no melhoramento das propriedades organolépticas e no aumento do valor nutricional dos alimentos (Tunland e Meyer, 2002; Anderson *et al.*, 2009).

Com efeito, estudos realizados por diversos autores relacionam o consumo de fibra dietética com a diminuição do risco de aparecimento de algumas destas doenças. Por exemplo, existem já evidências que comprovam que a prevenção dos factores de risco de doença cardíaca coronária está associada aos mecanismos induzidos pelo consumo de fibra dietética. Isto é, o consumo de fibra solúvel parece estar envolvido no aumento da velocidade de excreção biliar com consequente diminuição do teor de lipoproteínas de baixa densidade no sangue; na indução da produção de ácidos gordos de cadeia curta que inibem a síntese de colesterol; na regulação dos níveis de energia ingeridos auxiliando na perda e/ou manutenção do peso ideal; na diminuição do risco de diabetes tipo II quer pelo mecanismo de controlo da glicémia quer pela redução de ingestão de calorias; na diminuição da produção de citocinas pró-inflamatórias que parecem ter um efeito sobre a estabilidade das plaquetas; e na

diminuição dos níveis de proteína C reactiva que é um marcador de inflamação indicativo de doença cardíaca coronária (Anderson *et al.*, 2009; Ötles e Ozgoz, 2014).

Outro exemplo é o da obesidade uma vez que a sua primeira causa está relacionada com o aumento da razão entre a energia absorvida e a energia despendida e o consumo de fibra está comprovadamente relacionado com a diminuição desta razão. A fibra dietética, quando fermenta no intestino grosso, produz hormonas que induzem a sensação de saciedade. Por outro lado, as fibras aceleram o trânsito intestinal, ligando-se aos ácidos biliares, impedindo a formação de micelas e assim aumentando a excreção destes ácidos e de colesterol (Anderson *et al.*, 2009; Ötles e Ozgoz, 2014).

Adicionalmente, as fibras solúveis, no seu processo de fermentação, aumentam a flora bacteriana em bactérias promotoras da saúde, como os *Lactobacillus* e as *Bifidobacterias*, e as insolúveis contribuem para o aumento da massa fecal promovendo consequentemente a regulação do trânsito intestinal (Ötles e Ozgoz, 2014).

Outro aspecto de grande importância é o da relação entre a fibra dietética e a biodisponibilidade dos minerais. Apesar de algumas fontes de fibras de frutos e vegetais, com capacidade de trocar catiões a partir de resíduos de ácido galacturónico não metilado e ácido fítico, apresentarem um efeito inibitório na absorção de diversos minerais, outras fontes de fibras altamente fermentáveis tem um efeito contrário na absorção de minerais como o cálcio, o magnésio e o ferro, quando as concentrações de ácido fítico são mais baixas. Observou-se recentemente, que, para além da difusão decorrente no intestino delgado, as fibras altamente fermentáveis, tais como inulina e fruto-oligossacáridos, também promovem a absorção de minerais no cólon. Este mecanismo deve-se à produção de ácidos gordos de cadeia curta pela flora microbiana resultante do processo de fermentação, que por sua vez estimulam a proliferação de células epiteliais no intestino grosso e consequentemente reduzem o pH luminal. A um pH mais baixo os ácidos gordos de cadeia curta tem uma maior capacidade de dissolver estes minerais e permitir a sua absorção no intestino grosso (Tungland e Meyer, 2002).

Por todos os factos descritos, o consumo de fibra dietética é importante desde a infância uma vez que os benefícios para a saúde destes indivíduos para além de imediatos são também reflectidos no futuro. Deste modo, crianças com elevado consumo de fibra dietética têm tendência a ter uma dieta de maior valor nutritivo e maior probabilidade de ingestão dos nutrientes essenciais nas doses recomendadas (Anderson *et al.*, 2009, Ötles e Ozgoz, 2014).

Recomenda-se que o consumo diário de fibra dietética, tendo em conta as directrizes energéticas de 2000 kcal/dia para mulheres e 2600 /dia para homens adultos, seja cerca de 28 e 36 g, respectivamente (Ötles e Ozgoz, 2014).

Dada a elevada gama de benefícios oferecida por este grupo de compostos, existe um grande interesse no desenvolvimento, quer de novos produtos alimentares ricos nestes componentes, quer no desenvolvimento, muitas vezes a partir de desperdícios alimentares, de novos ingredientes como fonte de fibra dietética. Por exemplo, Henríquez e colaboradores (2010) desenvolveram um ingrediente contendo pele de maçã para ser usado como fonte de

compostos antioxidantes e fibra dietética. Já Bilgiçli e colaboradores (2007), estudaram o efeito da adição de fibra dietética nas propriedades de biscoitos com o intuito de os enriquecer neste componente.

1.3.2 ANTIOXIDANTES

Um antioxidante pode ser definido como uma substância que, quando presente em baixas concentrações, quando comparado com a concentração do substrato oxidável, inibe ou atrasa significativamente a oxidação do substrato, protegendo os alvos biológicos (Halliwell *et al.*, 1995). Estes compostos controlam naturalmente a formação de espécies radicalares, através da sua capacidade para as estabilizar ou inactivar, antes que estas actuem nas células, provocando danos. As espécies radicalares, por serem muito reactivas, podem causar lesões em vários compostos e componentes celulares, tais como proteínas, lípidos e ácidos nucleicos. As lesões que causam nestes importantes componentes celulares podem estar na base do aparecimento de determinadas patologias como, por exemplo, cancro, aterosclerose, diabetes, cirrose ou as doenças neurodegenerativas (Ferreira e Abreu, 2007). Desta forma, os antioxidantes, entre os quais se encontram os compostos fenólicos têm sido amplamente estudados devido à possibilidade de poderem contribuir para a prevenção de todas estas doenças (Acosta-Estrada *et al.*, 2013).

Os compostos fenólicos constituem um grande grupo de fitoquímicos, isto é, metabolitos secundários das plantas que se acumulam em grandes quantidades não tendo um papel relevante para o desenvolvimento da planta, mas que podem desempenhar um papel fundamental como antioxidantes e na protecção contra bactérias e fungos ou ataques de insectos e de outros animais (Crozier *et al.*, 2009; Acosta-Estrada *et al.*, 2014). Estes compostos são caracterizados por terem pelo menos um anel aromático com um ou mais grupos hidroxilo ligados e variam desde compostos de baixo peso molecular, com um único anel aromático, até compostos complexos e de elevado peso molecular como os taninos e os polifenóis derivados. São portanto classificados consoante o número e o rearranjo dos átomos de carbono e aparecem muitas vezes ligados a açúcares e a ácidos orgânicos. Os compostos fenólicos, existentes naturalmente nos tecidos das plantas, pertencem principalmente ao grupo dos flavonóides e dos ácidos fenólicos (Crozier *et al.*, 2009, Acosta-Estrada *et al.*, 2014).

Os flavonóides são os compostos fenólicos mais abundantes e comuns em todo o reino vegetal. Encontram-se normalmente na forma de glicosídeos (conjugados solúveis) simples ou múltiplos, encontrando-se as moléculas de açúcar ligadas por grupos OH ou por ligações C-C. Este grupo de compostos fenólicos está presente particularmente na epiderme das folhas e frutos. As principais subclasses de flavonóides alimentares são os flavonóis, as flavonas, os flavan-3-óis, as antocianidinas, as flavanonas e as isoflavonas (Crozier *et al.*, 2009, Acosta-Estrada *et al.*, 2014).

Os ácidos fenólicos aparecem geralmente na natureza na sua forma insolúvel ou ligada, sendo os principais com significado dietético o ácido gálico, que é o precursor biossintético dos

taninos hidrolisáveis, o ácido hidroxicinâmico e seus derivados conjugados (Crozier *et al.*, 2009; Acosta-Estrada *et al.*, 2014).

Os polifenóis são importantes antioxidantes e previnem a oxidação das lipoproteínas de baixa densidade (LDL) prevenindo, deste modo, a formação de placas de ateroma. Estes compostos têm demonstrado exercer a sua atividade antioxidante através de mecanismos de transferência eletrônica, mecanismos de transferência de átomos de hidrogénio e quelação de metais de transição, indução de enzimas antioxidantes ou inibição de enzimas oxidativas como as ciclooxygenases ou lipoxigenases (Ferguson, 2001).

Demonstrou-se, igualmente, em sistemas modelo *in vitro*, que os polifenóis inibem o crescimento e proliferação de células cancerígenas. Além disso, estes compostos têm o potencial de inibir a actividade de enzimas como α -amilase e α -glucosidase, contribuindo por isso para a redução dos índices de síndrome metabólica, e na prevenção da obesidade e de diabetes tipo II. No entanto, as concentrações de compostos bioactivos utilizadas nestes estudos são geralmente superiores às normalmente fornecidas pela dieta, uma vez que apesar da presença de grandes quantidades de polifenóis nos alimentos ingeridos, apenas uma fracção muito pequena (0,5% a 1%) é realmente absorvida (Correa-Betanzoer *et al.*, 2014).

A absorção de compostos fenólicos no trato gastrointestinal depende da estrutura do próprio composto, da forma como ocorre a sua metabolização quer pelas enzimas digestivas quer pelos microorganismos do cólon, podendo ainda ser dependente da presença de transportadores (Acosta-Estrada *et al.*, 2014). Diversos modelos têm vindo a ser desenvolvidos com o objectivo de simular a digestão gastrointestinal. Estas ferramentas permitem simular da forma mais exacta possível as condições do estômago e intestino podendo ainda envolver a simulação da acção da flora bacteriana do cólon (Crozier *et al.*, 2009; Correa-Betanzoer *et al.*, 2014).

O processamento de alimentos parece poder contribuir para o aumento da biodisponibilidade dos compostos fenólicos. Por exemplo, o processo de fermentação, preferido à utilização de enzimas químicas por ser mais barato, aumenta o teor em compostos fenólicos livres totais e, conseqüentemente, aumenta também a actividade antioxidante. Outro exemplo é o do processo de maltagem, conhecido por um lado por melhorar o valor nutricional e nutracêutico dos cereais e por outro por aumentar a biodisponibilidade dos compostos fenólicos ligados. Durante o processo de germinação da cevada são produzidos diferentes tipos de enzimas que têm um papel importante na libertação dos compostos fenólicos ligados com conseqüente aumento do teor em fenólicos livres totais e da capacidade antioxidante (Acosta-Estrada *et al.*, 2014).

Para além destes processos biológicos, também o processamento físico-químico pode ter um contributo importante para o aumento da biodisponibilidade. É o caso dos processos industriais de extrusão e hidrólise alcalina. Em ambos os casos, há uma libertação dos compostos fenólicos ligados devido à quebra das ligações das moléculas conjugadas com conseqüente aumento da actividade antioxidante (Acosta-Estrada *et al.*, 2014). O processo de hidrólise alcalina, é muito usado, por exemplo, para remover a epiderme de frutos e vegetais, o

que pode trazer algumas vantagens à utilização destes subprodutos da indústria alimentar, muitas vezes desperdiçados, uma vez que, no caso dos frutos, uma significativa parte dos compostos fenólicos existentes se encontram na epiderme (Henríquez *et al.*, 2010).

Um flagrante exemplo é o da maçã. Existe um enorme leque de estudos que determinaram que a concentração de compostos antioxidantes na epiderme da maçã é maior da que a existente na polpa (420 e 90 mg EAG/100g, respectivamente) (Almeida *et al.*, 2008). Cada vez menos na indústria, mas ainda com bastante frequência, a epiderme da maçã é removida por um processo mecânico e posteriormente tratada como desperdício. Dado o elevado potencial que este subproduto tem como ingrediente saudável na alimentação é pois interessante que se estudem modos de conservar os compostos fenólicos nele existentes e de aumentar a biodisponibilidade dos mesmos, bem como que se proponham vias para efectuar a sua introdução na alimentação do consumidor (Almeida *et al.*, 2008, Henríquez *et al.*, 2010).

1.3.3 CÁLCIO

O cálcio é um nutriente essencial para o organismo humano onde desempenha um papel estrutural fundamental nomeadamente nos ossos e dentes (Dayod *et al.*, 2010). Cerca de 99% do cálcio presente no organismo apresenta-se no esqueleto na forma de hidroxiapatite ($\text{Ca}_5\text{OH}(\text{PO}_4)_3$), apenas 1% está localizado em tecidos moles e só quantidades muito baixas, na ordem dos mmol L^{-1} se encontram nos fluidos extracelulares como sangue e plasma (Vavrusova e Skibsted, 2014). Este mineral está também envolvido em processos fisiológicos e bioquímicos como coagulação do sangue, contracção e relaxamento das miofibrilas nos músculos, incluindo o músculo cardíaco, transferência de iões inorgânicos através das membranas, secreção hormonal e libertação de enzimas celulares (Soto *et al.*, 2014; Vavrusova e Skibsted, 2014). A carência de cálcio no organismo é responsável pela osteoporose, uma doença causada pela descalcificação e desmineralização dos ossos que conduz a uma fragilidade do esqueleto tornando-o susceptível de fractura. Para além da osteoporose, a ingestão diária de cálcio abaixo da recomendada (800-1,300 mg) está também relacionada com outras doenças como raquitismo, hipertensão e cancro colo-rectal que para além de terem consequências negativas na qualidade de vida dos indivíduos acarretam elevados custos económicos (Dayod *et al.*, 2010; Soto *et al.*, 2014). O cálcio pode ainda ter efeitos benéficos para a saúde através da precipitação, e consequente aumento da excreção fecal, de ácidos gordos saturados, que na sua forma livre são considerados compostos potencialmente cancerígenos, e de ácidos gordos de cadeia longa, desempenhando assim um papel importante para a redução da absorção de gordura e para o controle de peso (Vavrusova e Skibsted, 2014).

Apesar de ser o quinto elemento mais abundante na crosta terrestre o cálcio não é facilmente obtido na alimentação e a sua carência afecta cerca de 75 milhões de pessoas em todo o mundo. Isto deve-se essencialmente ao facto de este mineral ter uma baixa biodisponibilidade nas formas em que naturalmente se apresenta na natureza (Dayod *et al.*, 2010; Vavrusova e Skibsted, 2014). A biodisponibilidade deste mineral depende da capacidade

que este apresenta para ser absorvido e utilizado nas várias funções fisiológicas incluindo a mineralização óssea. Vavrusova e Skibsted (2014) defendem mesmo que o cálcio só é considerado biodisponível quando esta capacidade de absorção compensa as perdas de massa óssea através da excreção urinária e fecal.

A absorção de cálcio ocorre essencialmente (90%) no intestino delgado e é feita na sua forma solúvel ionizada (Ca^{2+}) ou ligado a uma molécula orgânica solúvel que permite a passagem através da parede do intestino. A absorção no intestino pode ser feita por transporte transcelular, principalmente no duodeno, ou por um processo paracelular ao longo do intestino. A via de transporte transcelular é dependente e regulada pela presença de vitamina D, enquanto a via paracelular depende apenas da solubilidade do mineral (Vavrusova e Skibsted, 2014).

Apesar de a vitamina D ser conhecida por desempenhar um papel importante no desenvolvimento do osso permitindo a absorção de cálcio, estima-se que 1 bilião de pessoas em todo o mundo tenha deficiência ou insuficiência desta vitamina. A interacção da vitamina D com a 1,25 di-hidroxi vitamina D contribui, igualmente, para um aumento da absorção de cálcio no intestino. Adicionalmente e neste caso, a absorção de cálcio é também regulada por factores dietéticos uma vez que dependendo dos níveis séricos deste mineral serem baixos ou elevados a produção de 1,25 di-hidroxi vitamina D pode ser induzida ou suprimida de modo a aumentar ou diminuir a retenção de cálcio nos ossos, rins e intestino (Kaushik *et al.*, 2014; Vavrusova e Skibsted, 2014).

No caso da absorção de cálcio pela via de transporte paracelular, o cálcio iónico, formado no estômago por dissolução ácida pode precipitar sob a forma de sais de cálcio, como os fosfatos e carboxilatos, cuja solubilidade em água é baixa, quando os alimentos parcialmente digeridos passam para o intestino onde o pH é mais básico. Esta situação é apenas prevenida quando existem complexos competitivos inibidores da precipitação, disponíveis e resistentes ao gradual aumento do pH, que previnem a formação destas ligações e consequente precipitação. A baixa disponibilidade do cálcio parece pois estar relacionada também com a ocorrência destas reacções de precipitação que acontecem nesta fase da digestão, causadas pela ausência de inibidores de formação de sais de cálcio e de ligandos orgânicos solúveis (Vavrusova e Skibsted, 2014).

As maiores necessidades de cálcio acontecem durante o crescimento, devendo por isso prevalecer durante a gravidez e lactação, diminuindo depois progressivamente com a idade. A ingestão deste mineral é, por isso, particularmente importante em mulheres grávidas uma vez que é indispensável para o desenvolvimento do esqueleto do bebé para além de prevenir hipertensão e pré-eclâmpsia pré-natal. A partir dos 55 e 60 anos de idade para mulheres e homens respectivamente, a capacidade de absorção de cálcio começa a diminuir sendo muito baixa por volta dos 80 anos de idade (Vavrusova e Skibsted, 2014). Estes factos requerem um cuidado adicional no que respeita às necessidades nutricionais em determinadas idades.

O leite e os seus derivados são uma das principais fontes de cálcio na dieta humana juntamente com vegetais verdes, frutos secos e peixe. Apesar de a concentração de cálcio

presente em frutos e vegetais ser, na maioria dos casos, maior do que a existente nos produtos lácteos, a fracção biodisponível deste nutriente é inferior. Isto deve-se essencialmente à presença de anti-nutrientes como os fitatos e oxalatos que reduzem a absorção deste mineral no organismo humano (White e Broadley, 2009; Dayod *et al.*, 2010; Soto *et al.*, 2014). A ingestão de água potável é também uma importante fonte de obtenção deste mineral (Vavrusova e Skibsted, 2014). Para além da existência de anti-nutrientes nos alimentos, outros factores podem igualmente contribuir para uma baixa absorção de minerais como o cálcio. Dentro desses factores encontra-se a acloridria, condição causada pela baixa produção de ácido gástrico que afecta principalmente as idades mais avançadas, que contribui para a baixa absorção de cálcio por dificultar a dissolução de sais de cálcio com baixa solubilidade em água (Vavrusova e Skibsted, 2014). Por outro lado, enquanto para desordens como a osteoporose, a absorção é de grande importância, o cálcio não absorvido no intestino exerce uma funcionalidade útil bloqueando a absorção de subprodutos de digestão potencialmente nocivos. Deste modo, tanto o cálcio absorvido como o não absorvido ganham igual relevância e este facto deve ser tido em conta quando se pensa em estratégias de fortificação e biofortificação de alimentos e suplementação (Rafferty *et al.*, 2007).

O desenvolvimento de alimentos funcionais enriquecidos com compostos e elementos bioactivos como o cálcio deve ter o objectivo de, para além de determinar as características finais dos alimentos, conhecer a biodisponibilidade dos compostos bioactivos nos alimentos enriquecidos. Deste modo, os estudos de biodisponibilidade são essenciais para saber se um composto bioactivo está disponível para absorção a partir do alimento e se é assimilado no organismo pelo tecido alvo. Isto inclui conhecer o comportamento do composto bioactivo ao longo de toda a sequência de acontecimentos que ocorre durante o processo de digestão (Soto *et al.*, 2014).

Um grande número de compostos de cálcio é usado na fortificação e suplementação de alimentos, como por exemplo, carbonato de cálcio, citrato de cálcio, lactato de cálcio, gluconato de cálcio e sais de cálcio de ácido ortofosfórico, cujos aniões para além de bons ligandos contribuem para aumentar a solubilidade e diminuir a velocidade de precipitação deste mineral (Vavrusova e Skibsted, 2014). A escolha do sal de cálcio deve depender da compatibilidade com o processo de fabrico, do efeito no sabor e das características de estabilidade do alimento. Se o conjunto destes factores conduzir à escolha de um composto que apresente uma menor capacidade de absorção, a solução pode passar por aumentar a concentração do agente fortificante uma vez que o foco deve ser na quantidade de agente absorvido e não na quantidade adicionada (Rafferty *et al.*, 2007).

A biofortificação de diversos alimentos é uma outra estratégia para aumentar a ingestão de cálcio na dieta humana. O objectivo da biofortificação em cálcio é o de aumentar a concentração deste mineral nas culturas sem prejudicar o seu crescimento ou induzir um maior crescimento da cultura de modo a aumentar as entradas de cálcio através da água ou da fertilização. Estas estratégias consistem em aumentar a oferta de cálcio para as células, aumentar a absorção de cálcio pelas células e/ou aumentar a retenção de cálcio nas células e

tecidos. A utilização de manipulação genética de modo a inibir as vias de produção de anti-nutrientes como os fitatos e oxalatos pode ser também uma estratégia de aumentar a biodisponibilidade do cálcio. Para além do enriquecimento nutricional que estas estratégias proporcionam, o aumento do teor de cálcio nos tecidos parece também contribuir para um aumento da tolerância ao *stress* das plantas uma vez que a sua deficiência local afecta o desenvolvimento da parede celular e provoca a necrose das células. Adicionalmente a qualidade no armazenamento pós-colheita e o tempo de vida das culturas parecem sofrer uma melhoria pois o aumento de cálcio ajuda a prevenir muitas doenças causadas por parasitas precisamente por envolver o reforço da parede celular, dificultando a entrada de agentes patogénicos (Dayod *et al.*, 2010; White e Broadley, 2009). Deste modo, estas culturas de valor acrescentado parecem fornecer uma alternativa económica e ambientalmente mais vantajosa para o enriquecimento nutricional dos indivíduos (Dayod *et al.*, 2010).

1.4 MAÇÃ (DIVERSIDADE, PRODUÇÃO, FACTORES DE QUALIDADE, COMPOSIÇÃO QUÍMICA E VALOR NUTRICIONAL, PROPRIEDADES FUNCIONAIS)

A ideia de que a maçã é um alimento com elevados benefícios para a saúde, reflectida pelo ditado “ *An apple a day keeps the doctor away*” é já muito antiga e popular, no entanto, não datam de há muito os primeiros estudos que o comprovam cientificamente. Estes estudos têm revelado que este alimento tem na sua constituição uma série de compostos que contribuem para a prevenção de inúmeras doenças crónicas. Adicionalmente, a maçã, é um fruto que para além das suas agradáveis propriedades organolépticas tem a vantagem de ser um alimento fresco, de fácil consumo, acessível e disponível à maioria das populações (Boyer e Li, 2004). Esta disponibilidade é também devida ao facto de apresentar uma grande capacidade de ser armazenada sem perder o seu valor nutritivo e as suas propriedades organolépticas o que permite que possa ser apreciada durante praticamente todo o ano (Costa, 2016). Para além do seu valor nutritivo, este fruto tem um grande potencial profiláctico. No entanto, é importante referir que a grande maioria das substâncias activas responsáveis pelos benefícios para a saúde se encontram na casca e é por isso importante promover o seu consumo (Clube da Maçã de Alcobaça, 2016).

A maçã, de nome científico *Malus domestica* pertence à família das *Rosaceae*, sub-família das *Pomoideae* e género *Malus*. Actualmente pensa-se que existam mais de 7500 variedades de maçã dentro da espécie mais conhecida, a *Malus domestica* (Chakespari *et al.*, 2010; Clube da Maçã de Alcobaça, 2016).

1.4.1 PRODUÇÃO E DIVERSIDADE

Foi na Ásia Ocidental que a maçã teve origem tendo-se espalhado por todas as regiões do planeta onde as condições de solo e clima são propícias à sua produção. Estima-se que a produção anual mundial seja de cerca de 67 milhões de toneladas sendo o continente Asiático o responsável pela maior percentagem desta produção, cerca de 56%. Os restantes 44%

encontram-se distribuídos pela Europa (26%), América (15%), África (2%) e Oceania (1%). Portugal detém uma produção de cerca de 0,4% da produção mundial mas a sua produção tem vindo a aumentar ao longo dos anos (por exemplo, na campanha 2015 foram produzidas 340 mil toneladas, representando um aumento de 25% face ao ano anterior). É nas regiões do Ribatejo e Oeste que se concentra a maioria da produção deste fruto, no entanto Trás-os-Montes, Beira Litoral e Beira Interior são também produtores consideráveis (Ferreira, 2011).

São inúmeras as variedades de maçã que existem em Portugal tendo maior destaque, por serem as mais produzidas, as variedades *Golden Delicious*, *Red Delicious*, *Royal Gala Casanova*, *Fuji*, *Granny Smith*, *Reineta*, *Jonagold* e *Pink*. Para além das óbvias diferenças visuais e gustativas, as diferentes variedades apresentam também diferenças na sua composição química e nutricional (Clube da Maçã de Alcobaça, 2016).

1.4.2 FACTORES DE QUALIDADE

A qualidade pode ser definida como o conjunto de características que determinam o grau de aceitabilidade de um produto sendo um termo que denota um elevado grau de excelência (Barrett *et al.*, 2010).

As características sensoriais e nutricionais que determinam a qualidade das maçãs produzidas, independentemente da variedade, são altamente dependentes de condições pré-colheita como o clima, tipo de solo, radiação solar, composição do ar, relevo e tipo de cultivar, e pós-colheita como o estado de maturação à colheita e as condições de armazenamento (Ting *et al.*, 2015; Clube da Maçã de Alcobaça, 2016). As características sensoriais são as que normalmente determinam e têm impacte na avaliação do consumidor e incluem a cor, aparência, textura, sabor e aroma (Barrett *et al.*, 2010; Iglesias *et al.*, 2012; Šavikin *et al.*, 2014; Costa, 2016). A composição química e valor nutricional, são, na verdade, as características de maior importância no contributo para a saúde dos indivíduos apesar de ainda serem o último atributo de qualidade a ser percebido pelo consumidor (Almeida *et al.*, 2008; Barrett *et al.*, 2010).

O conceito de qualidade, apesar de importante em todo o processo de produção da maçã, toma especial relevância no período pós-colheita uma vez que este é um fruto normalmente armazenado por um longo período de tempo antes de ser consumido. Apesar da avaliação da qualidade se atribuir, frequentemente, apenas às propriedades da polpa, a epiderme tem um papel fundamental na protecção do fruto durante este período. Esta protecção exercida pela epiderme inclui protecção contra *stress* biótico e abiótico, danos por desidratação e manuseamento e ataque de microorganismos patogénicos e reflecte-se num aumento do prazo de validade e da qualidade durante o armazenamento e transporte. Adicionalmente é também a espessura da epiderme que determina se os frutos devem ser usados para consumo fresco ou se são mais adequadas para processamento industrial (Costa, 2016).

1.4.2.1 TEXTURA

A textura pode ser definida como um grupo de características físicas que surgem a partir de elementos estruturais dos alimentos, percebidas pelo sentido do tacto que estão relacionadas com a deformação, desintegração e fluxo (Barrett *et al.*, 2010).

Em frutos como a maçã, a textura é determinada pela crocância, firmeza e suculência e é um dos atributos que mais contribui para a determinação da qualidade e consequente aceitação por parte do consumidor (Iglesias *et al.*, 2012; Šavikin *et al.*, 2014). Está estreitamente relacionada com a frescura do fruto que é reflectida pela ausência de deterioração e/ou envelhecimento. Este parâmetro está ainda relacionado com a libertação do aroma, característica também importante na determinação da qualidade dos frutos (Dobrzański *et al.*, 2006; Corollaro *et al.*, 2013).

1.4.2.2 COR

A cor é um dos parâmetros mais importantes na formulação da imagem por parte do consumidor e influencia directamente a aceitação e as vendas uma vez que é a aparência o factor que mais dita a decisão de compra (Dobrzański *et al.* 2002, Dobrzański *et al.*, 2006, Iglesias *et al.*, 2012).

A cor dos frutos é determinada pela presença de pigmentos naturais cuja formação depende do estado de maturação. Nas maçãs, os pigmentos responsáveis pela formação da cor são essencialmente os carotenóides (amarelo, laranja e vermelho), as antocianinas (vermelho) e os flavonóides (amarelo) (Almeida *et al.*, 2008; Barrett *et al.*, 2010; Iglesias *et al.*, 2012). Cada variedade de maçã, apresenta uma cor de epiderme específica que varia entre o verde, amarelo e vermelho uniformes e compactos ou raiados, mesclados e com apresentação de laivos que misturam estas cores (Clube da Maçã de Alcobaça, 2016). Algumas variedades são actualmente comercializáveis somente se atingirem padrões rígidos para a intensidade e cobertura da cor (Dobrzański *et al.*, 2002). A preferência de cor depende da uniformidade, repetibilidade da cor dos frutos na colheita, intensidade, o tamanho da área de cor, maior ou menor brilho, escurecimento, ausência de mossas e outros defeitos físicos e grau de maturação (Dobrzański *et al.*, 2002; Barrett *et al.*, 2010).

1.4.2.3 SABOR E AROMA

Depois de atraído pela cor e aparência são o aroma e o sabor que determinam a escolha do consumidor dado que a frescura, a doçura, a acidez, a adstringência e a suculência são atributos de sabor fundamentais para o prazer de comer (Barrett *et al.*, 2010).

O aroma é dado pelo cheiro inculido pela presença de uma mistura complexa de compostos voláteis que são primariamente percebidas pelo nariz e posteriormente pela boca através de receptores de sabor activados pela mastigação (Simões *et al.*, 2009). O sabor pode ser dividido em cinco sabores primários, o doce, o ácido, o salgado, o amargo, e o umami (Barrett *et al.*, 2010).

Avaliações realizadas por diversos autores mencionam a presença de mais de 300 compostos orgânicos voláteis, como álcoois, ácidos, aldeídos, cetonas, ésteres alifáticos e aromáticos, responsáveis pelo aroma da maçã (Ting *et al.*, 2015).

1.4.2.4 COMPOSIÇÃO QUÍMICA E VALOR NUTRICIONAL

Apesar de não se ver e sentir, o valor nutricional é de extrema importância como atributo de qualidade uma vez que dele depende a saúde e bem-estar do consumidor (Barrett *et al.*, 2010).

Os frutos, incluindo a maçã, são uma fonte importante de macro (fibras e hidratos de carbono) e micronutrientes (vitaminas, minerais e polifenóis). No entanto é difícil para o consumidor distinguir entre alimentos com uma boa ou má qualidade nutricional uma vez que o único instrumento que têm à disposição para essa avaliação é a frescura do alimento (Barrett *et al.*, 2010).

Também os factores como tipo de cultivar, práticas de produção, condições de crescimento, maturação à colheita e pós-colheita, transporte e armazenamento contribuem para a determinação do valor nutricional das maçãs. No entanto é essencialmente durante o período de armazenamento que ocorre a perda de alguns nutrientes importantes como as vitaminas (Barrett *et al.*, 2010).

As características nutricionais das maçãs, salvaguardando alguns casos, variam com a variedade em questão tendo cada uma a sua composição individual com valores distintos de nutrientes. Este fruto caracteriza-se por um baixo valor energético (52,7 kcal /100 g) por ter um conteúdo de proteínas (0,37%), gorduras (0,1%) e hidratos de carbono (14,9%) não muito elevado; por ser um grande fornecedor de água (84,5%), vitamina C e sais minerais (0,22%) como o potássio (0,08%) e o cálcio (0,004%); e por ter uma grande quantidade de fibras (2,1%) e de fitoquímicos (0,4%) com actividade antioxidante que se encontram essencialmente na epiderme (Gorinstein *et al.*, 2001, Almeida *et al.*, 2008, Clube da Maçã de Alcobaça, 2016).

1.4.2.5 PROPRIEDADES FUNCIONAIS – FITOQUÍMICOS E FIBRAS

Um alimento diz-se funcional sempre que, para além da sua função básica de satisfazer as necessidades nutricionais, tem um contributo adicional para a saúde do consumidor. São alimentos funcionais os que contêm compostos com actividade antioxidante, microorganismos probióticos e/ou outros componentes bioactivos com capacidade de reduzir o risco de doenças crónicas não transmissíveis (Boyer e Liu, 2004).

Os compostos antioxidantes que na maçã conferem estas propriedades funcionais são denominados fitoquímicos (Wolfe e Liu, 2003; Almenda *et al.*, 2008). Fazem parte do grupo dos fitoquímicos compostos como os carotenóides, flavonóides e ácidos fenólicos (Boyer e Liu, 2004; Almenda *et al.*, 2008). Estes existem em maior quantidade na epiderme que na polpa devendo por isso ser incentivado o consumo da maçã com a casca. Enquanto a polpa, entre outros, contém catequinas, procianidinas, floridzina, floretina, ácido cafeico e ácido clorogénico,

a casca contem para além de todos estes compostos, flavonóides adicionais como quercetina, cianidina e rutina (Wolfe e Liu, 2003; Almenda *et al.*, 2008).

A maçã, por ser um fruto rico essencialmente em flavonóides (50 a 110 mg equivalentes catequina / 100 g), é uma significativa fonte destes antioxidantes na dieta dos consumidores (Boyer e Liu, 2004). Estudos realizados por Feskanich e colaboradores (2000) associaram especificamente o consumo da maçã com a diminuição do risco de cancro do pulmão. Também o consumo deste fruto tem vindo a ser directamente relacionado com a redução do risco de doenças cardiovasculares, asma e diabetes devido precisamente ao seu contributo em compostos antioxidantes na dieta (Boyer e Liu, 2004; O'Shea *et al.*, 2015). No entanto, muitos dos estudos realizados não encontram uma relação directa entre a ingestão de um determinado antioxidante com a diminuição do risco de incidência destas doenças. É o caso de estudos que tentam relacionar a quercetina com a incidência de doença cardiovascular; Vitaminas E e vitamina C com a asma e catequinas com cancro do pulmão. Este facto leva à conclusão de que é a combinação única de fitoquímicos na maçã que tem efeito preventivo na saúde do consumidor e não a presença de apenas um composto específico. Do mesmo modo, um estudo realizado *in vivo* para determinar o efeito da quercetina na oxidação lipídica, mostrou que a quercetina não tem efeito na inibição desta reacção mas a ingestão de sumo de maçã parece diminuir a oxidação de lípidos (Boyer e Liu, 2004). Muitos factores como o tipo de cultivar e condições de maturação podem afectar o perfil de fitoquímicos da maçã, no entanto durante o armazenamento não parece observar-se alterações neste perfil. O mesmo não acontece durante o processamento para produção de sumos, uma vez que esta manipulação resulta numa diminuição considerável destes compostos (Boyer e Liu, 2004). Contudo as epidermes resultantes retêm os compostos antioxidantes e por essa razão devem ser usadas, como ingredientes de valor acrescentado, na produção de outros alimentos (Eberhardt *et al.*, 2000; Wolf e Liu, 2003).

Para além dos fitoquímicos, também o elevado teor em fibra dietética presente na maçã, é responsável, para além das propriedades nutricionais, pelas suas propriedades funcionais (Figuerola *et al.*, 2004). Este fruto apresenta uma favorável razão entre a fracção de fibra solúvel e a fracção insolúvel, com consequências benéficas na saúde do consumidor. No entanto, a maior parte desta fibra encontra-se na epiderme da maçã. A fracção solúvel de fibra dietética, concentrada na polpa, é constituída por um elevado teor de pectina que parece ter um efeito positivo na redução do colesterol e na regulação do trato intestinal (Henríquez *et al.*, 2010; O'Shea *et al.*, 2012).

Adicionalmente, a associação com os compostos fitoquímicos conferem à fibra dietética da maçã uma melhor qualidade quando comparada com a presente noutros frutos (Figuerola *et al.*, 2004).

A epiderme da maçã contém, também, elevados teores de magnésio (12,6 mg/100g) e cálcio (9,15 mg/100 g) e teores moderados de zinco (40,2 µg/100 g), ferro (287 µg/100 g) e cobre (47,1 µg/100 g) que contribuem para que este fruto seja considerado um alimento funcional uma vez que mais de um terço das proteínas humanas depende da presença de

minerais. Estes minerais têm uma acção catalisadora eficaz na prevenção de certas doenças como por exemplo a arteriosclerose (Gorinstein *et al.*, 2001; O'Shea *et al.*, 2012, Šavikin *et al.*, 2014).

1.5 ENQUADRAMENTO E OBJECTIVO

A constante e crescente preocupação em minimizar os desperdícios alimentares com elevado conteúdo nutricional e funcional tem conduzido a que não só os investigadores e produtores procurem cada vez mais desenvolver novos produtos e ingredientes que fomentem o desenvolvimento sustentado, como a um interesse e procura destes produtos por parte dos consumidores (Laufenberg *et al.*, 2003; Mirabella *et al.*, 2014).

Os produtos alimentares mais produzidos, resultante do processamento da maçã, são os néctares e polpas de onde resulta uma elevada quantidade de desperdício de elevado valor nutricional e funcional, nomeadamente as epidermes. Estes desperdícios representam cerca de 25% do peso da maçã fresca e são essencialmente constituídos por substâncias fibrosas como celulose, hemicelulose e substâncias solúveis em água como pectina, caracterizadas por terem propriedades funcionais como a capacidade de retenção de água, de ligação e propriedades gelificantes. Isto confere, a estes resíduos, para além das propriedades nutricionais e funcionais já referidas, um potencial em formulações de alimentos (O'Shea *et al.*, 2015). Adicionalmente, os subprodutos de processamento de frutas têm também a vantagem de ser livres de glúten e lactose, tornando-os ingredientes potencialmente ideais para uma gama de produtos como os produtos de panificação, doces, bebidas e produtos de confeitaria. Cada vez mais, os consumidores optam pela procura de produtos que contêm ingredientes naturais.

Dados estes factos, o objectivo deste trabalho foi desenvolver um produto alimentar inovador de valor acrescentado, a partir de um subproduto da indústria de néctares e polpas actualmente utilizado em ração animal ou depositado em aterro. O desafio prendeu-se com a elaboração de uma farinha produzida a partir de epiderme de maçãs biofortificadas em cálcio, rejeitadas neste sector industrial e obtidas no âmbito do Projecto CaPolme - Maçãs Biofortificadas em Cálcio (Programa Proder - Medida 4.1. Cooperação para a Inovação; PA 24059), de modo a manter as suas propriedades nutricionais e funcionais conferidas pelo elevado conteúdo em compostos com actividade antioxidante e fibra dietética. O processo de biofortificação foi feito pela aplicação de tratamentos com sais de cálcio aos frutos, durante o seu desenvolvimento na árvore, visando incrementar a sua concentração em cálcio e tornando-o, assim, mais facilmente biodisponível ao nível dos tecidos. Por esta razão, esta farinha, deverá também apresentar-se fortificada em cálcio, um mineral de elevada importância para o equilíbrio nutricional, uma vez que o processo de biofortificação a que as maçãs foram submetidas, conduziu à acumulação deste mineral essencialmente na epiderme e na polpa que imediatamente se lhe segue. Esta farinha será utilizada na formulação de um preparado para elaboração de bolachas que se pretende que contenha um valor acrescentado concedido pela utilização da farinha em questão. Os preparados formulados serão avaliados do ponto de vista nutricional e sensorial tendo como comparação preparados formulados com farinhas de

epiderme de maçãs não biofortificadas em cálcio e preparados formulados sem farinha de epiderme de maçã.

1.5.1 APRESENTAÇÃO DO PRODUTO

O produto será apresentado numa embalagem de cartão onde se apresentam impressos os parâmetros referentes à rotulagem. No interior da embalagem de cartão, uma outra embalagem que neste caso será de papel, deve conter a formulação para elaboração das bolachas de maçã. Este preparado apresenta-se sob a forma de pó granulado, de tonalidade creme constituído por, entre outros ingredientes, uma farinha preparada a partir de epiderme de maçãs biofortificadas em cálcio.

1.5.2 PÚBLICO-ALVO

O produto alimentar em questão foi pensado de modo a que as propriedades funcionais conferidas pela presença de significativos teores de fibra dietética, compostos antioxidantes e cálcio presentes na epiderme das maçãs biofortificadas em cálcio fossem uma mais-valia na dieta dos consumidores. Deste modo, apesar de este produto se destinar a todo o tipo de consumidores terá essencialmente como público-alvo consumidores com necessidades acrescidas de cálcio como é o caso de mulheres grávidas, crianças, mulheres em idade de menopausa e idosos. Adicionalmente, por ser um preparado para elaboração das bolachas pelo consumidor, torna-se ideal para ser feito em família uma vez que esta pode ser uma actividade pedagógica e divertida para as crianças.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 AMOSTRAS

As amostras consistem nas farinhas elaboradas a partir de maçãs biofortificadas e não biofortificadas (controlo) em cálcio, nos preparados para elaboração de bolacha que foram formulados utilizando essas diferentes farinhas e nas bolachas finais.

2.1.1 FARINHAS DE MAÇÃ

As farinhas de maçã foram preparadas a partir de casca de maçã '*Golden delicious*' (*Malus domestica* Borkh). As maçãs foram fornecidas pela empresa Frubaça CRL, e tinham sido previamente submetidas a diferentes tratamentos de biofortificação em cálcio, nomeadamente submetidas a tratamentos de pré- e pós-colheita com soluções de cálcio: tratamento convencional (TC); tratamento com nitrato de cálcio e cloreto de cálcio (TA) e tratamento com cloreto de cálcio (TB). Como controlo foi utilizada maçã '*Golden Delicious*' comercial, de origem portuguesa, adquirida numa superfície comercial.

2.1.1.1 PRÉ-TRATAMENTO E SECAGEM DAS EPIDERMES DE MAÇÃ

Para a preparação das farinhas de maçã foram testados diferentes procedimentos de pré-tratamento e secagem tendo por base o método descrito por Wolfe e Liu (2003). Assim, duas maçãs, por cada ensaio, foram lavadas e descascadas abrangendo uma camada de polpa de cerca de 5 milímetros. As epidermes (cerca de 90g) foram submetidas a um tratamento de branqueamento, por imersão num banho de água a 100°C durante 10 segundos, a um tratamento com uma solução de ácido ascórbico (Merck F 574727) 0,2% durante 3 minutos ou deixadas sem tratamento. Posteriormente foram colocadas numa estufa (MEMMERT, B60 854 Schwabach) a uma temperatura de 60°C durante 72h. As epidermes desidratadas foram arrefecidas num exsiccador e pesadas numa balança analítica (Mettler Toledo, AB204-S).

O mesmo procedimento foi realizado com secagem a 70°C e 80°C de modo a seleccionar o tipo de pré-tratamento e secagem mais adequado a aplicar.

Foi ainda realizado um ensaio de desidratação por liofilização durante 4 dias, em epidermes não sujeitas a pré-tratamento.

2.1.1.2 MOAGEM DAS EPIDERMES DESIDRATADAS:

As epidermes secas (cerca de 17 g) foram trituradas no robot de cozinha Bimby TM31 (Vorwerk) pressionando o botão turbo 4 vezes durante 3 segundos de cada vez. As farinhas obtidas foram colocadas em sacos de plástico 20x30 cm (Flama) e embaladas em vácuo numa embaladora Vac Control System Pro+ 1910FL (Flama).

2.1.2 FORMULAÇÃO DOS PREPARADOS

Os preparados para elaboração de bolacha de maçã foram formulados em colaboração com a empresa Condi Alimentar S.A. Foram testadas nove formulações com os ingredientes farinha de trigo T45 (*Carneiro Campos*), açúcar, farinha maizena (*Roquette, Laisa Espanha S.A.*), gordura vegetal hidrogenada Edifett HWP 007 (*Molkerei MEGGLE Wassenburg GmbH & Co. KG*), bicarbonato de sódio (*Sadawerk Stabfurt GmbH & Co. KG*), lecitina de soja (*Sternchemie Lipid Technology*), spongolit 450 (*Cognis Deutschland GmbH & Co. KG*), pirofosfato de sódio 40 (*THERMPHOS INTERNATIONAL B.V.*), aroma de maçã (*PROAROMÁRTICA, Aromas Alimentares, Lda.*) e farinha de maçã produzida como descrito no ponto 2.1.1 desta dissertação. No caso do preparado controlo a farinha de maçã foi substituída por farinha de trigo T45 e por farinha maizena. Para cada formulação, os ingredientes foram pesados numa balança analítica (Ohaus, PA114CM), misturados, colocados em sacos de papel (80 micros + PE 45) e selados com uma máquina seladora (Coalza, L70, RS 250-DS). Cada preparado tinha um peso total de 350 g.

2.1.3 ELABORAÇÃO DAS BOLACHAS DE MAÇÃ

Os preparados foram testados nas temperaturas de cozedura de 180°C, 200°C e 220°C e nos tempos de cozedura de 8, 10 e 12 minutos (Forno AEG, B9871-5) numa sequência de teste-decisão, tendo em conta os parâmetros de aspecto, aroma, sabor, e textura pretendidos para as bolachas de maçã. Ovos e margarina (Vaqueiro) foram também testados, em diferentes quantidades, como ingredientes a adicionar ao preparado para confecção das bolachas.

2.2 PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS

Os parâmetros físico-químicos foram determinados nas diferentes modalidades de farinha de maçã e nos preparados de bolachas sem e com as diferentes modalidades de farinha de maçã.

2.2.1 HUMIDADE

A humidade foi determinada pelo método de secagem em estufa aprovado pela AOAC Internacional (Nielsen, 2009) (AOAC, 1990). Para tal pesou-se, numa balança analítica (Mettler Toledo, AB204-S) aproximadamente 1 g de amostra que foi, seguidamente, colocado numa estufa a 70°C durante 4h (Memmert/Rost Frei). As amostras secas foram arrefecidas num exsiccador, pesadas novamente e a percentagem de humidade calculada pela expressão:

$$\% \text{ Humidade (p/p)} = (\text{peso de H}_2\text{O na amostra} / \text{peso da amostra húmida}) \times 100$$

Os ensaios de determinação da percentagem de humidade foram realizados em triplicado.

2.2.2 CINZA

A determinação do teor de cinza foi efectuada pelo método oficial recomendado pela AOAC Internacional (Nielsen, 2009) (AOAC, 1990) que consistiu na pesagem de cerca de 1g de amostra em cadinhos previamente secos durante 1h a 550°C numa mufla (HERAEUS D6450-M110, 1991), arrefecidos no exsiccador e pesados. As amostras foram incineradas na mufla durante 4h a 550±50°C e arrefecidas no exsiccador até à temperatura ambiente. Os cadinhos contendo as cinzas foram pesados numa balança analítica (Mettler Toledo, AB204-S) e a percentagem de cinza determinada pela expressão:

$$\% \text{ Cinza (p/p)} = [(\text{peso da amostra incinerada} - \text{peso do cadinho}) / (\text{peso inicial da amostra})] \times 100$$

Os ensaios foram realizados em triplicado.

2.2.3 PROTEÍNA

O conteúdo de azoto total foi determinado pelo método oficial AOAC micro-Kjeldhal e convertido em proteína usando o fator de conversão de 6,25 (Nielsen, 2009) (AOAC, 1990).

Pesou-se cerca de 0,5 g de amostra numa balança analítica (Mettler Toledo AB204) e digeriu-se com ácido sulfúrico concentrado (95-97%), uma mistura de catalisadores composta por selénio e sulfato de potássio e reguladores de ebulição, a 360°C até a solução ficar incolor. O digerido foi filtrado para balões volumétricos de 100 mL e aferido com água ultra-pura. A amostra foi alcalinizada a pH 8 com hidróxido de sódio 6 M e destilada por arrastamento de vapor (Kjeltec System 1002 Distilling Unit Tecator), tendo o destilado sido recolhido numa solução de ácido bórico (20 g/L), sendo os boratos posteriormente doseados por titulação com ácido clorídrico 0,02 N. Os ensaios foram realizados em triplicado.

A proteína bruta foi determinada utilizando a expressão:

$$\% \text{ proteína (m/m)} = V_1 * N * b_1 * 1,4 * 6,25 / (V_2 * m_1)$$

Em que:

V_1 - volume de H_2SO_4 gasto na titulação (mL)

V_2 - volume de amostra digerida utilizado na destilação (mL)

b_1 - volume do balão volumétrico onde ficou reservado o digerido (mL)

N - normalidade do titulante (N)

m_1 - massa de amostra seca utilizada(g)

2.2.4 GORDURA

O teor de gordura nos preparados contendo farinha de maçã e no preparado controlo foi estimado tendo em conta os teores de gordura descritos nas fichas técnicas de todos os

ingredientes constituintes da formulação e partindo do pressuposto teórico de que a farinha de maçã produzida tem um teor de gordura de 2,1% dado pela literatura consultada (Henriques *et al.*, 2010).

2.2.5 AÇÚCARES

Os açúcares livres, nomeadamente sacarose, glucose, frutose e sorbitol, foram determinados com base no método descrito por Pais e colaboradores (2008) com algumas adaptações. As amostras foram analisadas por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (*High-Performance Liquid Chromatography-HPLC*) (Waters binary HPLC) num cromatógrafo equipado com um detector (Waters 2414), com coluna de fase reversa Sugar-Pak I (300x6,5 mm; Waters) em forno a 90°C. O eluente utilizado foi água pura com 50 ppm de EDTA-Ca, com um fluxo de 0,5 mL/min.

A metodologia para a extracção dos açúcares das diferentes amostras foi adaptada de Hudina e Stampar (2000). Pesou-se cerca de 1 g de amostra, dissolveu-se em 10 mL de água destilada e colocou-se num banho de ultra-sons (Bandelin Sonorex Electronic, RK31) durante 15 minutos. Posteriormente foram adicionados mais 10 mL de água destilada e a solução foi centrifugada a 15000xg, durante 15 min a 4°C (Centrífuga Blofuge 28 RS Heraeus Sepatech). O sobrenadante foi filtrado com seringas e filtros Millipore de 0,22 µm para eppendorfs e guardado a -20°C.

Para a construção da curva de calibração, preparou-se uma solução padrão com sacarose (Sigma), glucose (Merck), frutose (Merck) e sorbitol (Sigma), fizeram-se 7 diluições da mesma (0,2 – 20 g/L) e injectaram-se 30 µL de cada diluição. As amostras foram descongeladas, homogeneizadas e injetadas nas mesmas condições de corrida dos padrões.

2.2.6 FIBRAS

A fibra dietética total presente nas farinhas de maçã e no preparado de bolachas sem farinha de maçã foi determinada pelo método enzimático-gravimétrico oficial (AOAO 991.43) (Nielsen, 2009). A determinação foi feita utilizando o Kit de determinação de fibra dietética total da Sigma (Sigma, TDF-100A).

O procedimento foi realizado em quadruplicado e consistiu na digestão enzimática sequencial de cerca de 1 g de amostra com as enzimas α-amilase termoestável a 95°C (Sigma, A3306), protease a 60°C (Sigma, P3910) e amiloglucosidase a 60°C (Sigma, A9913), após dissolução da amostra em tampão fosfatos de sódio, 0,08M a pH 6,0. O digerido foi precipitado com etanol a 95% (Fischer Chemical UN 1170) e filtrado em cadinhos previamente tarados. O resíduo foi seco durante a noite numa estufa com arejamento a 105°C (Memmert/Rost Frei) Dois dos duplicados foram incinerados durante 5h a 525°C numa mufla (HERAEUS D6450-M110, 1991), arrefecidos num exsiccador e pesados numa balança analítica (Mettler Toledo, AB204-S). Os restantes duplicados foram utilizados para a determinação da proteína pelo método de Kjeldhal.

Os ensaios em branco foram realizados seguindo todos os procedimentos de igual modo sem a presença da amostra.

A percentagem de fibra dietética total foi calculada pela expressão:

$$\% \text{ FDT} = ((R_{\text{amostra}} - P_{\text{amostra}} - A_{\text{amostra}} - B) / \text{SW}) * 100$$

Onde:

R_{amostra} - média peso resíduo na amostra (mg)

P_{amostra} - média peso proteína na amostra (mg)

A_{amostra} - média peso cinzas na amostra (mg)

SW - média peso da amostra (mg)

$B = R_{\text{branco}} - P_{\text{branco}} - A_{\text{branco}}$, em que R_{branco} - média peso resíduo no branco (mg)

P_{branco} - média peso proteína no branco (mg)

A_{branco} - média peso cinzas no branco (mg)

A fibra dietética total nos preparados de bolacha contendo farinha de maçã foi estimada tendo em conta a proporção de farinha de maçã utilizada.

2.2.7 MINERAIS

Os minerais analisados nas amostras de farinhas de maçã e preparados de bolachas foram: potássio, cálcio, sódio, zinco, ferro, magnésio e manganês.

As amostras (0,5 g) foram previamente incineradas de acordo com o procedimento descrito no ponto 2.2.2, tendo a cinza assim obtida sido posteriormente digerida com 10 mL de uma solução de ácido nítrico concentrado (Panreac, 65%) num banho a 95°C (MEMMERT WNB14L0) durante 1h. O digerido foi filtrado para balões volumétricos de 100 mL e o volume aferido com água ultra-pura.

A determinação dos metais foi realizada num espectrofotómetro de absorção atómica (SOLAAR Thermo Electron Corporation M Series) com chamas de acetileno/ar e acetileno/protóxido de azoto consoante o mineral em análise. Para efetuar a calibração foram utilizadas soluções padrão dos respectivos minerais, preparadas em água acidificada com ácido nítrico (Panreac, 65%) a pH 2,0. Os ensaios foram realizados em triplicado.

2.2.8 COMPOSTOS FENÓLICOS

O teor em compostos fenólicos totais foi determinado pelo método colorimétrico de Folin-Ciocalteu como descrito por Wolfe e Liu (2003) com algumas alterações. Cerca de 0,25 g de amostra foram misturados com 5 mL de acetona (80%), macerados num almofariz e colocados num banho de ultra-sons durante de 20 minutos (Bandelin Sonorex Electronic, RK31). Da solução resultante, 0,25 mL foram misturados com 2 mL de água e 0,25 mL de reagente Folin-Ciocalteu (VWR - Chemicals UN 3264). Após 5 minutos foram adicionados 5 mL de uma solução 75 g/L de Na_2CO_3 (Merck A 715992) e 5 mL de água. A mistura foi incubada no escuro durante 1h à temperatura ambiente e a absorvância foi lida a um comprimento de onda de 765

nm num espectrofotómetro UV-VIS (SHIMADZU, UV – 160 A, 1991). O teor em fenólicos totais foi expresso em mg de equivalente de ácido gálico por 100 g de amostra (mg EAG 100 g peso seco) utilizando para tal a curva elaborada com o padrão ácido gálico (Panreac 132830) (10-500 mg/L; $y=0,0019x - 0,0093$; $R^2 = 0,9999$). Os ensaios foram realizados em triplicado.

2.2.9 ÁCIDO ASCÓRBICO

A determinação do teor de ácido ascórbico nas farinhas de maçã e nos preparados de bolachas de maçã foi realizada pelo método descrito por *Barros et al.*, 2009. Deste modo, cerca de 150 mg de amostra foram extraídas com 10 mL de ácido metafosfórico 1% (Merck K 31650246) à temperatura ambiente durante 45 minutos. Seguidamente, as amostras foram filtradas em filtros de papel (Whatman nº4, 90 mm). O filtrado (0,5 mL) foi misturado com 4,5 mL de uma solução 0,5 mM de 2,6-diclorofenolindofenol (DCPIP) (BDH 0687180) e incubado durante 15 minutos à temperatura ambiente. Após este período mediu-se a absorvância a um comprimento de onda de 515 nm num espectrofotómetro UV-VIS (SHIMADZU, UV – 160 A, 1991). O teor de ácido ascórbico foi determinado com base na curva de calibração feita a partir de um padrão de ácido ascórbico (Merck F 574727) (0,0 - 0,2 mg/mL; $y = -1,8844 x + 0,4716$; $R^2 = 0,9906$) e expresso em mg ácido ascórbico por 100g de peso seco. Os ensaios foram realizados em triplicado.

2.3 PARÂMETROS ENERGÉTICOS

O teor calórico (kcal) dos preparados de bolachas de maçã biofortificadas em cálcio foi calculado por estimativa tendo em conta o teor calórico de todos os ingredientes constituintes. Para o ingrediente farinha de maçã, o teor calórico foi calculado com base nos teores de proteína e hidratos de carbono, tendo em conta os fatores de 4 kcal/g proteína, 4 kcal/g hidratos de carbono e 9 kcal/g para gordura (Regulamento (UE) Nº 1169/2011).

2.4 ANÁLISE SENSORIAL

2.4.1 PROVA EFETIVA

A análise sensorial foi feita recorrendo a duas provas efetivas com o objectivo de avaliar o grau de aceitação das bolachas de maçã biofortificadas em cálcio.

As provas foram realizadas numa sala com cabines individuais e em condições de iluminação, temperatura e humidade adequadas. Na primeira prova foram fornecidas amostras de bolacha com farinha de maçã comercial, com farinha de maçã TB e sem farinha de maçã, codificadas com letras e a avaliação envolveu a participação de um painel de 33 provadores não treinados. A segunda prova foi realizada após a análise de resultados da primeira com o objectivo de avaliar uma tentativa de melhoria do produto no que respeita ao parâmetro textura. Esta prova foi realizada nas condições anteriormente descritas e envolveu um painel de 41 provadores não treinados.

Durante a prova foram disponibilizadas para além das amostras a avaliar, bolachas de água e sal, um copo com água, guardanapos, a folha de prova e esferográfica.

Foi solicitada a classificação das bolachas em termos de aceitação nos parâmetros Aspecto, Aroma, Sabor, Textura, e Apreciação Global. A classificação foi feita por meio de uma escala hedónica de 5 pontos, onde 1 corresponde a “não gosto nada”, 2 a “não gosto”, 3 a “não gosto nem desgosto”, 4 a “gosto” e 5 a “gosto muito”. Foi ainda avaliada a intenção de compra/recomendação do produto e a predisposição para pagar mais por um produto biofortificado. Esta avaliação foi feita recorrendo a simples questões de escolha entre “sim” e “não”. A folha de prova utilizada encontra-se em anexo.

Foi ainda efectuada uma prova recorrendo a um painel de 15 provadores constituído por crianças entre os três e os cinco anos de idade com o objectivo de perceber se este alvo de consumidores gosta ou não do produto. A prova foi realizada num ambiente familiar para as crianças, nomeadamente o refeitório da escola que frequentam, e em grupos de três crianças de cada vez de modo a garantir a ausência de troca de impressões durante a prova. As crianças foram questionadas sobre se gostavam ou não das bolachas.

2.4.2 PROVA DE DIFERENÇA-DO-CONTROLO

A prova de diferença-do-controlo foi realizada com o propósito de avaliar a qualidade das bolachas confeccionadas a partir de um preparado com 6 meses e de um preparado fresco e assim contribuir para o estudo do tempo de vida do produto em questão.

A prova foi realizada nas condições referidas no ponto anterior, recorrendo a um painel de 41 provadores não treinado. Foram fornecidas seis amostras codificadas com letras e números, correspondentes às três modalidades de bolacha (com farinha de maçã comercial, de maçã TB e sem maçã) confeccionadas a partir de preparados com seis meses e preparados frescos. A avaliação foi feita questionando o painel sobre se percepcionava diferença entre as duas bolachas da mesma modalidade e sobre qual a preferência. A folha de prova pode ser consultada em anexo.

2.4.3 CONTROLO DE QUALIDADE DOS PREPARADOS DE BOLACHA

De modo a avaliar a estabilidade dos preparados de bolacha de maçã biofortificada em cálcio durante o seu tempo de prateleira, foram analisadas amostras de preparado acabadas de formular e amostras armazenadas à temperatura ambiente e em local seco e fresco durante um período de seis meses. Os parâmetros avaliados foram os seguintes: Aparência da embalagem; Cheiro e textura do conteúdo; Presença de bolores e pragas no conteúdo; Aparência do produto durante a preparação; Cheiro, cor, sabor e textura do produto após preparação.

2.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados obtidos em todos os ensaios, foram analisados com recurso ao *software* SPSS 20.0 (SPSS, Chicago, IL, EUA), através de uma análise de variância (*one-way* ANOVA). As

diferenças significativas ($P < 0,05$) entre as médias foram determinadas recorrendo ao teste Tukey. Para cada amostra foram efectuados três ensaios independentes ($n = 3$).

2.6 ROTULAGEM TÉCNICA

O rótulo da embalagem sugerido, para acondicionar o produto desenvolvido, foi elaborado tendo em conta:

As regras gerais de rotulagem do Decreto-Lei nº 560/99, de 18 de Dezembro;

As normas de rotulagem nutricional previstas no Decreto-Lei nº 167/2004, de 7 de Julho;

O Regulamento (CE) Nº 1924/2006 do Parlamento Europeu E do Conselho de 20 de Dezembro de 2006 relativo às alegações nutricionais e de saúde sobre os alimentos;

O Regulamento (UE) Nº 432/2012 da Comissão de 16 de maio de 2012 que estabelece uma lista de alegações de saúde permitidas relativas a alimentos que não referem a redução de um risco de doença ou o desenvolvimento e a saúde das crianças;

O Decreto-Lei nº 126/2005 de 5 de Agosto que altera o artigo 15º do Decreto-Lei 560/99 referente à Indicação de ingredientes considerados alergénios;

O Decreto-Lei n.º 156/2008 de 7 de Agosto que altera o Anexo III do Decreto-Lei 560/99 referente aos alergénios;

O Regulamento (UE) Nº 1169/2011 do Parlamento Europeu e do Conselho de 25 de Outubro de 2011 relativo à prestação de informação aos consumidores sobre os géneros alimentícios, incluindo a declaração nutricional e a rotulagem de certas substâncias ou produtos que provocam alergias ou intolerâncias.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A realização deste trabalho pretende, como objetivo primordial, aproveitar as diversas vantagens oferecidas pelas notáveis qualidades nutricionais e sensoriais da epiderme de maçãs biofortificadas em cálcio na elaboração de um novo produto alimentar, um preparado para bolachas de maçã. Espera-se que o produto obtido ofereça uma mais-valia, quer ao nível da sustentabilidade uma vez que a ideia implica a utilização de epidermes resultantes da produção de néctares e polpas, quer ao nível nutricional e sensorial. Para isso, a partir das epidermes das maçãs, foi produzida uma farinha que posteriormente foi incorporada nos preparados. As propriedades físico-químicas e sensoriais dos preparados de bolachas contendo esta farinha e a farinha de maçã foram analisadas de modo a determinar e comprovar as vantagens da utilização da farinha de maçã em substituição parcial da farinha de trigo e milho normalmente usada neste tipo de produtos.

3.1 AMOSTRAS

3.1.1 FARINHAS DE MAÇÃ - ELABORAÇÃO

Para a determinação das melhores condições de produção das farinhas de maçã, as epidermes de maçã '*Golden Delicious*' foram primeiramente submetidas a diferentes tratamentos, imediatamente após a sua remoção, de modo a determinar qual o mais eficaz na inactivação das enzimas responsáveis pelo escurecimento enzimático que ocorre, caracteristicamente neste tipo de fruto, quando a estrutura celular é quebrada (Henríquez *et al.*, 2010). Realizaram-se os seguintes ensaios: (i) tratamento por imersão em ácido ascórbico 0,2% de modo a proceder à inactivação enzimática por acidificação, (ii) branqueamento durante 10 segundos com o objectivo de inactivar termicamente as enzimas responsáveis por este processo e (iii) sem tratamento de inactivação enzimática. Não foram observadas diferenças significativas no escurecimento das epidermes tratadas ou não tratadas tendo sido, de seguida testados diferentes processos de secagem: por liofilização e secagem em estufa a diferentes temperaturas, 60°C, 70°C e 80°C de modo a determinar, por observação visual, olfactiva e gustativa das farinhas resultantes, o processo e temperatura a adotar. Como se pode observar na Figura 3.1, na secagem às temperaturas de 70°C e 80°C e liofilização, nenhuma diferença significativa foi percecionada entre as farinhas das epidermes sujeitas aos diferentes tratamentos de inactivação enzimática. A 60°C observou-se um ligeiro escurecimento na farinha resultante das epidermes sujeitas a branqueamento semelhante ao escurecimento observado em todos os casos da secagem a 70°C. A secagem das epidermes a 80°C deu origem a farinhas bastante mais acastanhadas, com um cheiro intenso a caramelo e mais doces, resultante essencialmente das reações de Maillard e das reacções de caramelização que podem ocorrer durante o processo de secagem. Já o processo de liofilização conduziu à obtenção de uma farinha de cor verde clara, de cheiro e sabor agradável semelhante ao da maçã fresca. A farinha seleccionada

foi a resultante do processo de secagem a 70°C sem tratamento de inactivação enzimática por ser a que parece conjugar um melhor compromisso entre as características sensoriais e económicas uma vez que a farinha resultante da liofilização levaria a um produto economicamente menos interessante por ser um processo moroso e dispendioso.

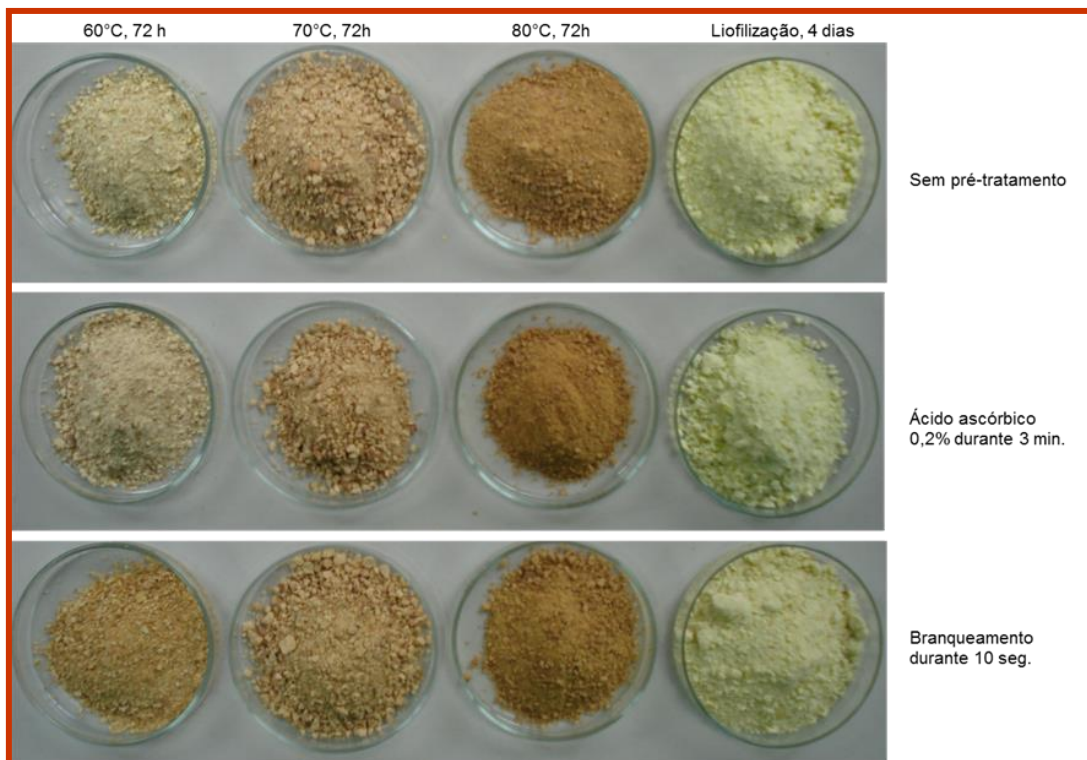


FIGURA 3.1 - Aspeto visual das farinhas produzidas a partir das maçãs *Golden Delicious* após secagem em estufa a 60 °C, 70 °C e 80 °C durante 72h e previamente submetidas a um tratamento de imersão numa solução de 0,2% de ácido ascórbico durante 3 minutos, imersão em banho de água a 100 °C durante 10 segundos, ou sem tratamento.

Uma vez que este estudo não teve como principal objectivo a avaliação do efeito dos vários tratamentos e processos de secagem nas propriedades nutricionais da farinha final, não obstante a sua importância para a qualidade nutricional do produto desenvolvido, esta avaliação foi apenas realizada nos preparados finais de bolachas de maçã. No entanto, Wolfe e Liu (2003), num estudo bastante completo com o objectivo de determinar qual o melhor tratamento e secagem para a manutenção das propriedades antioxidantes da epiderme de maçã '*Rome Beauty*', observaram que as epidermes não tratadas apresentavam um teor de fenólicos totais superior às tratadas com ácido cítrico. Já relativamente ao processo de branqueamento durante dez segundos, este pareceu exercer um efeito protetor destes compostos, sendo o teor de fenólicos totais superior ao teor determinado nas epidermes sem tratamento. Foi ainda testado por estes autores, o efeito do tratamento por imersão numa solução de várias concentrações em Vitamina C, não parecendo este ter nenhum efeito benéfico no que respeita ao teor de fenólicos totais. Os mesmos autores observaram também que à medida que se aumentava a temperatura de secagem das epidermes o teor de fenólicos totais não diminuía de modo significativo quer nas

amostras sem tratamento quer nas amostras com tratamento, sendo ligeiramente superior nas amostras sujeitas a tratamento por branqueamento.

Após a selecção das condições mais adequadas de elaboração, foram produzidas farinhas a partir das epidermes das maçãs. Na realização deste trabalho utilizaram-se epidermes de quatro tipos diferentes de maçãs '*Golden Delicious*' com o objetivo de proceder à elaboração das formulações dos preparados de bolachas e posterior análise físico-química e sensorial. Assim utilizaram-se maçãs submetidas a dois diferentes tratamentos de biofortificação em cálcio, nomeadamente maçãs que durante a sua produção foram sujeitas a tratamento com doses mais elevadas do que o convencional de nitrato de cálcio (TA) ou de cloreto de cálcio (TB); Maçãs sem tratamento de biofortificação em cálcio, ou seja maçãs, em que não se aplicaram sais de cálcio em quantidades superiores às convencionais (TC) e ainda, para efeitos de comparação, maçãs '*Golden Delicious*' sem tratamento de biofortificação adquiridas numa superfície comercial. Deste modo, produziu-se cerca de 1kg de farinha de cada modalidade a partir das epidermes de uma média de 120 maçãs. As farinhas obtidas foram acondicionadas em sacos de plástico hermeticamente fechados.

De seguida apresenta-se uma lista das farinhas produzidas a partir da epiderme das diferentes maçãs:

Farinha de maçãs comercial – T comercial

Farinha de maçã com tratamento convencional - TC

Farinha de maçã com tratamento com nitrato de cálcio – TA

Farinha de maçã com tratamento com cloreto de cálcio – TB

3.1.2 PREPARADOS - FORMULAÇÃO

A formulação do preparado para elaboração das bolachas de maçã foi feita em colaboração com a empresa Condi Alimentar, S.A.

Foram testados nove preparados com diferentes percentagens de farinha de maçã em substituição parcial da farinha de trigo e milho, normalmente utilizada neste tipo de produtos. A selecção do formulado foi feita com base em provas sensoriais preliminares realizadas com provadores da empresa Condi Alimentar S.A. A formulação seleccionada contém 25% de farinha de maçã e a sua composição, bem como a função de cada ingrediente, é apresentada na tabela 3.1.

Depois de desenvolvida a formulação, foram preparados 12 sacos de cada modalidade contendo os preparados de bolachas com as farinhas produzidas a partir das epidermes das maçãs. Estes preparados destinaram-se a análises físico-químicas, análise sensorial e ensaios de tempo de prateleira.

TABELA 3.1– Quantidade em peso (g) e em percentagem de massa (%) de cada ingrediente utilizado na formulação do preparado de bolachas de maçã e no preparado controlo sem farinha de maçã.

| Componente | Função | Preparados Teste | | Preparados Controlo | |
|--|---|------------------|------------|---------------------|------------|
| | | Quantidade (g) | % Massa | Quantidade (g) | % Massa |
| Farinha de trigo sem fermento | Volume, Estrutura, Textura | 127,1 | 36,3 | 199,6 | 57,0 |
| Farinha de maçã biofortificada em cálcio | Melhorar as propriedades nutricionais e organolépticas | 87,5 | 25,0 | - | 0,0 |
| Açúcar | Adoçante | 80,0 | 22,9 | 80,0 | 22,9 |
| Amido de milho nativo | Crocância; Espessamento | 42,4 | 12,1 | 57,4 | 16,4 |
| Gordura vegetal hydrogenada HWP 007 (xarope de glucose, gordura vegetal hydrogenada de palma, emulsionantes (E471,E472a), caseinato de sódio, estabilizador (E340), antiaglomerante (E341) | Sabor; Textura; Diminuição do tempo de batimento durante a preparação | 4,8 | 1,4 | 4,8 | 1,4 |
| Bicarbonato de sódio | Levedante | 1,8 | 0,5 | 1,8 | 0,5 |
| Lecitina de soja | Emulsionante | 3,0 | 0,9 | 3,0 | 0,9 |
| Spongolit (xarope de glucose, farinha de soja, E472b, E477 e fosfato de sódio) | Emulsionante | 1,5 | 0,4 | 1,5 | 0,4 |
| Aroma de maçã | Aroma/Sabor | 1,2 | 0,3 | 1,2 | 0,3 |
| Pirofosfato de sódio | Levedante | 0,7 | 0,2 | 0,7 | 0,2 |
| Total | | 350,0 | 100 | 350,0 | 100 |

3.1.3 BOLACHAS DE MAÇÃ - CONFECCÃO

O modo de confeccionar as bolachas de maçã a partir do preparado foi também testado em colaboração com a empresa Condi Alimentar, S.A.. Nesta fase foram testados os ingredientes a adicionar ao preparado, ovos, margarina e leite, de modo a obter uma massa fácil de moldar e uma bolacha com as melhores características sensoriais no que respeita a aspeto, sabor, cheiro e crocância. Foram também testadas as condições de tempo e temperatura de cozedura de modo a encontrar as melhores condições para obter uma bolacha saborosa e crocante. Testou-se, ainda, o número de bolachas, com uma dimensão de cerca de 7 cm de diâmetro, que cada preparado permitia confeccionar. No entanto, e dado que este produto se destina a ser confeccionado pelo consumidor final, estes parâmetros de tempo e temperatura de cozimento, e número e diâmetro de bolachas poderá ficar ao critério e gosto de cada consumidor.

De seguida, são apresentadas as condições e modo de proceder para a confecção das bolachas de maçã biofortificadas em cálcio.

Cada saqueta contendo 350 g de preparado com a adição de um ovo inteiro e 50g de margarina, equivale aproximadamente a 30 bolachas de 7 cm de diâmetro.

O modo de preparação determinado é o seguinte:

1. Pré-aquecer o forno (ventilado) a 200°C.
2. Forrar dois tabuleiros com papel vegetal.
3. Juntar num recipiente o ovo, o conteúdo da saqueta e a margarina cortada em pequenos pedaços.
4. Misturar com as mãos ou com a batedeira à velocidade mínima, até juntar todos os ingredientes.
5. Esticar a massa, com o auxílio de um rolo numa superfície plana previamente polvilhada com farinha.
6. Cortar a massa em círculos de cerca de 7 cm de diâmetro e colocar no tabuleiro previamente forrado com papel vegetal.
7. Levar ao forno durante cerca de 8 minutos.
8. Guardar numa caixa hermeticamente fechada.

3.2 PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS

Avaliaram-se os parâmetros físico-químicos de humidade, cinza, proteína bruta, gordura, minerais (zinco, ferro, magnésio, potássio, cálcio, sódio e manganês), açúcares, fibras, compostos fenólicos totais e ácido ascórbico das diferentes amostras de farinhas de maçã e dos respectivos preparados elaborados com essas farinhas.

3.2.1 HUMIDADE, CINZA E PROTEÍNA

A maçã é um fruto que contém um elevado teor de humidade, isto é, cerca de 80% do fruto é constituída por água. Este elevado teor de humidade é, em grande parte, devido ao seu elevado conteúdo em fibra solúvel e consequente capacidade de retenção de água (Chen *et al.*, 1988).

O teor de humidade determinado nas farinhas produzidas a partir das várias maçãs utilizadas (Tabela 3.2) foi em média, cerca de 3%. Este resultado encontra-se de acordo com o determinado por Henríquez e colaboradores (2010), num ingrediente similar à farinha em questão, produzido a partir de epidermes de maçã '*Granny Smith*'. No que respeita às diferenças determinadas entre os teores de humidade determinados nas diferentes modalidades de farinha de maçã, estas podem ser provenientes da elevada higroscopicidade característica da maçã e que constitui um obstáculo à precisão do método usado. Nos preparados de bolachas de maçã, a humidade aumentou de modo significativo sendo cerca de duas vezes superior ao das farinhas de maçã (Tabela 3.2). Isto deve-se ao facto de os preparados serem constituídos em cerca de 50% por farinha de trigo e milho com teores de humidade de 14,5% e 13% respectivamente. Entre os diversos preparados não se observam diferenças significativas causadas pelas diferenças entre as farinhas de maçã. No entanto, a

adição de farinha de maçã aos preparados parece diminuir, ainda que de modo pouco significativo a humidade do produto final o que poderá ser uma mais-valia se tivermos em conta que parte desta humidade poderá corresponder a água livre no alimento e deste modo aumentar a perecibilidade do produto final.

TABELA 3.2 - Humidade, Cinzas e Proteína Bruta (%) nas amostras de farinha de maçã comercial, TC, TA, TB e nas amostras de preparados de bolachas com farinha de maçã comercial, TC, TA, TB e sem farinha de maçã.

| | Humidade (%) | Cinzas (%) | Proteína bruta (%) |
|--------------------------------------|----------------------------|--------------------------|----------------------------|
| Tcomercial | 1,98 ± 0,16 _a | 1,65 ± 0,01 _a | 1,28 ± 0,03 _a |
| TC | 4,06 ± 0,33 _b | 1,25 ± 0,02 _b | 1,41 ± 0,04 _{a,b} |
| TA | 2,96 ± 0,09 _c | 1,59 ± 0,02 _a | 1,50 ± 0,05 _b |
| TB | 3,37 ± 0,15 _{b,c} | 1,42 ± 0,02 _c | 1,37 ± 0,04 _{a,b} |
| Preparado Tcomercial | 7,49 ± 1,26 _A | 1,07 ± 0,01 _A | 3,71 ± 0,32 _A |
| Preparado com TC | 7,42 ± 0,88 _A | 0,99 ± 0,02 _A | 3,59 ± 0,05 _A |
| Preparado com TA | 6,67 ± 0,16 _A | 1,00 ± 0,01 _A | 3,52 ± 0,15 _A |
| Preparado com TB | 6,91 ± 0,71 _A | 1,02 ± 0,03 _A | 3,47 ± 0,30 _A |
| Preparado sem farinha de maçã | 9,90 ± 0,76 _A | 0,78 ± 0,01 _B | 5,27 ± 0,19 _B |

Os valores apresentados são o resultado da média de três ensaios independentes ± o erro padrão. Médias ± erro padrão com letras minúsculas iguais indicam que não existem diferenças significativas entre as amostras de farinhas de maçã, e valores com letras maiúsculas iguais indicam que não existem diferenças significativas entre as amostras de preparados de bolacha ($P > 0,05$).

Os teores de cinza nas maçãs são relativamente baixos quando comparados com outros frutos como por exemplo os citrinos (Figuerola *et al.*, 2005) e não diferem muito quando se compara o teor presente na epiderme com o da polpa da maçã (Henríquez *et al.*, 2010). Os teores de cinza determinados oscilaram entre 1,25% e 1,65% nas diferentes modalidades de farinhas e encontram-se de acordo com o teor determinado por Aguedo e colaboradores (2012), (1,22 ± 0,16%) num estudo com o objectivo de avaliar o potencial de subprodutos do processamento de frutas em produtos alimentares. Quando comparados com o teor existente nos preparados observa-se uma diminuição deste valor para cerca de 1% devido ao, ainda mais baixo conteúdo em cinzas dos ingredientes constituintes. Esta diminuição é ainda mais acentuada no preparado sem farinha de maçã.

Relativamente ao teor de proteína nas farinhas de maçã, este é, como esperado relativamente baixo (aproximadamente 1,4%) uma vez que a maçã é naturalmente pobre em proteína. Os valores determinados neste estudo são inferiores ao descrito por Henríquez e colaboradores (2010) (2,3%±0,2) em epidermes secas de maçã 'Granny Smith'. Este fato pode ser atribuído à diferente modalidade de maçã estudada. Também aqui, a ausência de diferenças neste parâmetro entre as diferentes farinhas não surpreende uma vez que a diferença entre elas é o tipo de tratamento de biofortificação em cálcio. Os preparados apresentam um teor de proteína superior ao das farinhas de maçã (cerca de 3,5%) proveniente essencialmente da proteína presente na farinha de trigo utilizada. Entre os vários preparados a

principal diferença encontra-se no preparado não contendo farinha de maçã que apresentou um teor proteico mais elevado por ter uma maior quantidade de farinha de trigo.

3.2.2 GORDURA

A maçã é conhecida e caracterizada por ser um fruto praticamente isento de gordura. De acordo com a literatura, o teor de gordura existente nos resíduos resultantes do processamento da maçã, constituídos essencialmente por epidermes é de aproximadamente 2-3 g/100 g (Henriques *et al.*, 2010; Aguedo *et al.*, 2012; O'Shea *et al.*, 2015). Deste modo, foi realizado uma estimativa da gordura nos preparados de bolachas tendo em conta a gordura dos ingredientes constituintes e partindo do pressuposto de que a gordura na farinha de maçã é de cerca de 2,1 g/100 g (Henriques *et al.*, 2010).

Este cálculo, apresentado na tabela 3.3, não permite fazer comparações entre os vários preparados uma vez que todos são iguais em quantidades variando unicamente o tipo de farinha de maçã, exceto no que não tem farinha de maçã. No entanto, permite ter uma ideia da quantidade de gordura no produto final e fazer uma comparação nutricional com outros produtos pertencentes à mesma categoria.

TABELA 3.3 - Teor de gordura (g/100g) estimado com base nos teores de gordura dos ingredientes constituintes do preparado de bolachas de maçã.

| | Gordura (%) |
|--------------------------------------|--------------------|
| Farinhas de maçã | 2,1 |
| Preparado com farinha de maçã | 6,2 |
| Preparado sem farinha de maçã | 5,1 |

3.2.3 AÇÚCARES

Os açúcares são os principais metabolitos que determinam a qualidade organolética da maçã uma vez que o balanço entre eles é responsável pelo sabor e aroma deste fruto. Os açúcares presentes na maçã são maioritariamente a frutose e a glucose estando também presente a sacarose e o poliol sorbitol (Sun *et al.*, 2000; Zhang *et al.*, 2010). De um modo geral os níveis de frutose descritos são mais elevados que os de glucose (Wu *et al.*, 2007). Os resultados obtidos para os teores de açúcares nas farinhas de maçã, embora provenientes essencialmente de epidermes da maçã, encontram-se de acordo com o descrito na literatura no que respeita aos maiores e menores níveis, não tendo sido encontrado até à data nenhum estudo de caracterização de açúcares na epiderme de maçã. Quando comparadas as farinhas provenientes de maçãs sujeitas a diferentes tratamentos de biofortificação e sem tratamento, observa-se uma variação ligeira entre estes os teores de açúcares determinados com maior relevância no caso da sacarose e glucose (Tabela 3.4). No caso da glucose, a maçã adquirida numa superfície comercial apresenta um valor mais elevado ($20,39 \pm 0,11$ g/100 g). Esta diferença pode ser explicada pelo diferente grau de maturação destas maçãs comparativamente com as utilizadas nas restantes farinhas que foram produzidas a partir de

epidermes provenientes de maçãs com o mesmo grau de maturação. Com efeito, é sabido que o teor em glucose aumenta com o grau de maturação das maçãs (Reid, 2002). No que respeita ao teor de sacarose, a variação entre farinhas com e sem tratamento de biofortificação não parece obedecer a nenhum padrão, podendo o diferente estado de maturação dos frutos ser também a justificação para este fato uma vez que o processo de biofortificação não parece ter influência na quantidade de açúcares na maçã.

Dado que os preparados de bolachas de maçã apenas conterem 25% deste ingrediente, quando se analisa o teor de açúcares totais, observa-se uma diminuição significativa para cerca de metade (cerca de 40%). Esta diminuição não é mais acentuada devido à presença de 22,9% de açúcar branco comercial, sacarose. Analisando os açúcares individualmente, comprova-se que o aumento da sacarose nos preparados é responsável por cerca 75% dos açúcares totais do produto final sendo o restante essencialmente frutose e glucose proveniente da farinha de maçã. Este fato é ainda comprovado pela ausência de outros açúcares para além da sacarose adicionada no preparado sem adição de farinha de maçã.

TABELA 3.4 - Composição em açúcares nas amostras de farinha de maçã comercial, TC, TA, TB e nas amostras de preparados de bolachas com farinha de maçã comercial, TC, TA, TB e sem farinha de maçã (g/100g).

| | Sacarose | Glucose | Frutose | Sorbitol | Açúcares Totais |
|--------------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|----------------------------|--------------------------|-----------------------------|
| T comercial | 7,23± 0,08 _a | 20,39 ± 0,11 _a | 49,23 ± 0,24 _a | 2,97 ± 0,02 _a | 79,82 ± 0,45 _{a,b} |
| TC | 13,75 ± 0,04 _b | 15,58 ± 0,25 _{b,c} | 50,65 ± 0,63 _a | 2,06 ± 0,04 _b | 82,04 ± 0, 97 _b |
| TA | 10,66 ± 0,07 _c | 15,87 ± 0,07 _b | 49,18 ± 0, 24 _a | 2,16 ± 0,01 _b | 77,88 ± 0,39 _a |
| TB | 6,57 ± 0,14 _d | 15,06 ± 0,26 _c | 46,21 ± 0,81 _a | 1,67 ± 0,03 _c | 69,51 ± 1,23 _c |
| Preparado com T comercial | 28,52 ± 1,33 _A | 2,87 ± 0,05 _A | 9,57 ± 0,05 _A | 0,52 ± 0,01 _A | 41,48 ± 1,40 _A |
| Preparado com TC | 27,34 ± 1,09 _{A,B} | 3,42 ± 0,33 _A | 10,23 ± 0,90 _A | 0,62 ± 0,05 _A | 41,61 ± 0,17 _A |
| Preparado com TA | 23,49 ± 0,39 _B | 3,06 ± 0,02 _A | 9,77 ± 0,11 _A | 0,49 ± 0,01 _A | 36,81 ± 0,50 _B |
| Preparado com TB | 29,46 ± 0,29 _{A,C} | 3,81 ± 0,39 _A | 8,90 ± 1,57 _A | 0,57 ± 0,06 _A | 42,74 ± 0,62 _A |
| Preparado sem farinha de maçã | 33,03 ± 1,40 _C | 0,00 ± 0,00 _B | 0,00 ± 0,00 _B | 0,00 ± 0,00 _B | 33,03 ± 1,40 _B |

Os valores apresentados são o resultado da média de quatro ensaios independentes ± o erro padrão. (n=4). Médias ± erro padrão com letras minúsculas iguais indicam que não existem diferenças significativas entre as amostras de farinhas de maçã, e valores com letras maiúsculas iguais indicam que não existem diferenças significativas entre as amostras de preparados de bolacha (P>0,05).

3.2.4 FIBRAS

Muitos estudos têm sido realizados no que respeita à determinação do teor de fibras nas maçãs, muitos deles com o objectivo de extracção destes compostos para possível

enriquecimento de outros alimentos uma vez que este fruto é rico nestes compostos. O conteúdo em fibra dietética total é significativamente mais elevada na epiderme do que na polpa da maçã (2,9% e 2,2% respectivamente) o que confere à epiderme propriedades interessantes do ponto de vista nutricional. (Leontowicz *et al.*, 2007).

TABELA 3.5 - Teor de fibra dietética total (FDT) nas amostras de farinha de maçã e preparados de bolacha de maçã, expresso em percentagem.

| | Fibra Dietética Total (%) |
|--------------------------------------|----------------------------------|
| T comercial | 13,19 ± 0,06 _a |
| TC | 16,56 ± 0,29 _b |
| TA | 15,86 ± 0,02 _b |
| TB | 15,20 ± 0,11 _c |
| Preparado com T comercial | 3,30 ± 0,01 _A |
| Preparado com TC | 4,10 ± 0,07 _B |
| Preparado com TA | 3,97 ± 0,00 _B |
| Preparado com TB | 4,05 ± 0,03 _B |
| Preparado sem farinha de maçã | 0,00 ± 0,00 _C |

Os valores apresentados são o resultado da média de três ensaios independentes ± o erro padrão (n=3). Médias ± erro padrão com letras minúsculas sobscritas iguais indicam que não existem diferenças significativas entre as amostras de farinhas de maçã, e valores com letras maiúsculas iguais indicam que não existem diferenças significativas entre as amostras de preparados de bolacha (P>0,05).

A farinha de maçã obtida a partir das maçãs biofortificadas e maçãs tratadas convencionalmente apresenta um teor de fibra dietética total de cerca de 16%. Este resultado encontra-se de acordo com os resultados obtidos por Suni *et al.*, (2000) num estudo comparativo para caracterização de sete cultivares diferentes de maçã. Estes autores determinaram um teor de fibra dietética total entre 14,5 e 21,4%. A farinha produzida a partir de maçã comercial apresenta um teor ligeiramente mais baixo, cerca de 13%, provavelmente devido a possíveis diferenças nas condições edafoclimáticas e às técnicas culturais aplicadas nos pomares onde cresceram os frutos (Henríquez *et al.*, 2010). Os teores de fibra dietética total determinados para as farinhas de maçã estão, no entanto, de um modo geral três a cinco vezes abaixo dos descritos por outros autores (Figuerola *et al.*, 2005; Henríquez *et al.*, 2010). As diferentes variedades de maçãs utilizadas bem como os métodos utilizados podem estar na origem desta diferença.

A substituição da farinha de trigo e milho pela farinha de maçã contribui para a apresentação de um produto alimentar mais rico em fibra dietética, com cerca de 4%, uma vez que o preparado não contendo esta farinha não contém fibra. No que respeita aos preparados com maçã biofortificada e não biofortificada não foram encontradas diferenças significativas.

3.2.5 MINERAIS

A composição em minerais na maçã depende da capacidade de cada cultivar para extrair estes minerais do solo e da capacidade de os distribuir pela árvore e por todo o fruto, dependendo conseqüentemente da composição do solo. Por esta razão, estes minerais nem sempre estão igualmente distribuídos por todas as partes do fruto e podem variar muito com a cultivar e com a área geográfica. A maçã é considerada uma importante fonte de minerais na dieta, no entanto, e de um modo geral, estes encontram-se em maior quantidade na epiderme que na polpa (Gorinstein *et al.*, 2001; Henríquez *et al.*, 2010; Šavikin *et al.*, 2014).

Os resultados obtidos mostraram que no caso das farinhas de maçã, constituídas essencialmente pelas epidermes o K foi o elemento presente em maior quantidade em todos os casos (Tabela 3.6). Este resultado encontra-se de acordo com os resultados descritos pela maioria dos autores (Henríquez *et al.*, 2010; Šavikin *et al.*, 2014; O'Shea *et al.*, 2015). Este mineral encontra-se sensivelmente nas mesmas quantidades quer na farinha de maçã biofortificada quer na não biofortificada (cerca de 450 mg/100g), não parecendo este processo ter influência no teor deste mineral. Isto acontece com a maioria dos elementos determinados sendo excepção o Na e o Ca. Nestes casos, o processo de biofortificação pareceu induzir um aumento nos teores destes minerais sendo, no caso do Ca, este aumento de cerca de 65% e 75%, para TA e TB, respectivamente. Este incremento no conteúdo de cálcio era esperado uma vez que as maçãs que deram origem às farinhas foram sujeitas a um processo de biofortificação com nitrato de cálcio/cloreto de cálcio (TA) e cloreto de cálcio (TB). Este aumento de cálcio, verificou-se também nos preparados das bolachas, ainda que com menor evidência. Quando se compara o teor deste elemento nos preparados sem farinha de maçã e com farinha de maçã não biofortificada, observa-se que o teor em cálcio foi similar (cerca de 32 mg/100 g). Este fato evidencia, que um dos principais objectivos do desenvolvimento do produto em questão, a obtenção de um produto com um valor nutricional acrescido em cálcio, foi alcançado. Para além da melhoria das qualidades nutricionais do produto, a presença de cálcio promove também a formação de géis, uma vez que as propriedades gelificantes da pectina são promovidas quando na presença deste mineral (Lufferberg *et al.*, 2003; O'Shea *et al.*, 2015). Ainda que a presença de pectina na farinha de maçã deva existir em quantidades baixas, uma vez que, para além de esta ser uma fibra solúvel presente essencialmente na polpa, o processo de biofortificação está também relacionado com a diminuição deste componente contribuindo para um aumento da firmeza do fruto, este fato pode ter influencia na textura do produto final (Dayod *et al.*, 2010). O processo de biofortificação com cloreto de cálcio (TB) parece também induzir um aumento significativo no teor de Fe o que parece trazer uma vantagem à utilização desta farinha, uma vez que possibilita o aumento de ingestão deste mineral de extrema importância para a manutenção de uma boa saúde. Este facto pode levantar à questão da possibilidade de o processo específico de biofortificação com cloreto de cálcio poder ter influência na mobilidade deste mineral. Este aumento é também observado, apesar de com menos evidência, no preparado de bolachas contendo esta farinha de maçã.

Para além da vantagem proveniente do Ca, de um modo geral, a substituição parcial da farinha de trigo e milho pela farinha de maçã parece aumentar o teor da maioria dos minerais determinados (Fe, Mg, K e Ca) no preparado de bolachas de maçã. Este aumento é mais acentuado no caso do Mg, no entanto, não se encontram diferenças significativas entre os preparados contendo farinha de maçã biofortificada ou não biofortificada. No caso dos minerais Zn, Mn e Na, a utilização da farinha de maçã em substituição da farinha de trigo e de milho não parece oferecer nenhuma vantagem uma vez que o conteúdo destes minerais não difere em nenhum dos casos.

TABELA 3.6 – Teor de minerais (zinco, ferro, magnésio, potássio, cálcio, sódio e manganês) nas amostras de farinha de maçã comercial, TC, TA, TB e nas amostras de preparados de bolachas com farinha de maçã comercial, TC, TA, TB e sem farinha de maçã (mg/100g).

| | Zn (mg/100g) | Fe (mg/100g) | Mg (mg/100g) | K (mg/100g) | Ca (mg/100g) | Na (mg/100) | Mn (mg/100g) |
|--------------------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|----------------------------|---------------------------|----------------------------|--------------------------|
| T comercial | 0,28 ± 0,03 _a | 1,30 ± 0,13 _a | 35,90± 1,26 _a | 496,26± 17,06 _a | 37,09± 2,77 _a | 29,16 ± 6,40 _a | 0,73 ± 0,03 _a |
| TC | 0,25 ± 0,09 _a | 1,15 ± 0,20 _a | 37,03± 1,54 _a | 410,60 ± 7,89 _b | 42,70± 2,27 _a | 33,51 ± 8,99 _a | 0,67 ± 0,07 _a |
| TA | 0,15 ± 0,01 _a | 1,35 ± 0,02 _a | 37,62± 1,24 _a | 484,90 ± 4,31 _a | 61,14± 4,46 _b | 51,16 ± 4,88 _b | 0,60 ± 0,03 _a |
| TB | 0,21 ± 0,01 _a | 2,53 ± 0,77 _a | 34,91± 1,16 _a | 414,08± 6,76 _b | 65,04± 0,95 _b | 56,71 ± 2,70 _b | 0,72 ± 0,08 _a |
| Preparado com Tcomercial | 0,21 ± 0,01 _A | 1,07 ± 0,13 _A | 20,00± 2,85 _A | 239,74±16,29 _A | 32,85± 2,15 _A | 172,11 ± 1,57 _A | 0,38 ± 0,05 _A |
| Preparado com TC | 0,23 ± 0,03 _A | 1,05 ± 0,07 _A | 34,91± 3,66 _A | 211,73±25,06 _A | 36,16±0,48 _{A,B} | 161,09 ± 8,12 _A | 0,36 ± 0,05 _A |
| Preparado com TA | 0,27 ± 0,04 _A | 1,05 ± 0,10 _A | 21,74± 0,68 _A | 216,91 ± 9,55 _A | 43,84± 1,95 _C | 151,05 ± 1,53 _A | 0,36 ± 0,03 _A |
| Preparado com TB | 0,16 ± 0,01 _A | 1,19 ± 0,22 _A | 21,33± 1,10 _A | 183,53 ± 2,76 _A | 40,97±2,48 _{B,C} | 154,85± 2,22 _A | 0,38 ± 0,01 _A |
| Preparado sem farinha de maçã | 0,23 ± 0,02 _A | 0,66 ± 0,11 _A | 7,89 ± 0,13 _B | 84,85± 6,15 _B | 32,26±1,06 _A | 157,04 ± 2,80 _A | 0,39 ± 0,06 _A |

Os valores apresentados são o resultado da média de três ensaios independentes ± o erro padrão (n=3). Médias ± erro padrão com letras minúsculas iguais indicam que não existem diferenças significativas entre as amostras de farinhas de maçã, e valores com letras maiúsculas iguais indicam que não existem diferenças significativas entre as amostras de preparados de bolacha (P>0,05).

3.2.6 COMPOSTOS FENÓLICOS E ÁCIDO ASCÓRBICO

Os compostos fenólicos providenciam efeitos benéficos para a saúde, com grande probabilidade, devido ao seu potencial antioxidante. Do ponto de vista tecnológico, estes compostos parecem também contribuir para a cor e características sensoriais dos produtos alimentares (Aguedo et al., 2012). Sabe-se que a maioria dos compostos fenólicos responsáveis por grande parte da actividade antioxidante da maçã se encontram na epiderme. Segundo Wolfe e Liu (2003) o teor destes compostos diminui com os processos de secagem. No entanto esta diminuição não é muito acentuada com o aumento da temperatura, no caso de secagem em estufa. O teor em compostos fenólicos totais determinado nas farinhas de maçã, 470 mg EAG/100 g (Tabela 3.7), não difere muito dos valores descritos por diversos autores para os subprodutos resultantes do processamento da maçã, e nalguns casos dos valores descritos para a maçã (386 - 500 mg EAG/100 g) (Wolfe e Liu, 2003; Rupasinghe *et al.*, 2008; Henríquez *et al.*, 2010). Este fato sugere o sucesso da manutenção da capacidade antioxidante proveniente destes compostos durante o processo de produção da farinha de maçã com significativas vantagens no produto final. Como se pode observar na tabela 3.8, o teor de fenólicos totais é três a quatro vezes superior nos preparados de bolachas contendo a farinha de maçã relativamente ao preparado sem este ingrediente. Este resultado está de acordo com o obtido por Sudha e colaboradores (2007) que determinaram um teor de compostos fenólicos totais em subprodutos do processamento da maçã cerca de dez vezes superior ao da farinha de trigo. Pode ver-se também que o teor de fenólicos totais não apresenta diferenças significativas entre as farinhas e respectivos preparados no que respeita a amostras provenientes de maçãs biofortificadas e não biofortificadas.

TABELA 3.7 - Teor de fenólicos totais expresso em mg de EAG/ 100g de peso seco.

Os valores apresentados são o resultado da média de três ensaios independentes \pm o erro padrão ($n=3$). Médias \pm erro padrão com letras minúsculas iguais indicam que não existem diferenças significativas entre as amostras de farinhas de maçã, e valores com letras maiúsculas iguais indicam que não existem diferenças significativas entre as amostras de preparados de bolacha ($P>0,05$).

*n.d.- não detectado.

| | Fenólicos Totais (mg de EAG / 100g) | Ácido Ascórbico |
|--------------------------------------|---|----------------------------------|
| T comercial | 498,67 \pm 6,12 _a | n.d.* |
| TC | 486,03 \pm 14,26 _a | n.d.* |
| TA | 470,76 \pm 29,47 _a | n.d.* |
| TB | 422,49 \pm 14,40 _a | n.d.* |
| Preparado com T comercial | 112,47 \pm 15,62 _A | n.d.* |
| Preparado com TC | 97,62 \pm 6,11 _A | n.d.* |
| Preparado com TA | 92,72 \pm 11,73 _A | n.d.* |
| Preparado com TB | 128,73 \pm 7,37 _A | n.d.* |
| Preparado sem farinha de maçã | 24,32 \pm 0,99 _B | n.d.* |

O teor de ácido ascórbico, vulgarmente conhecido por vitamina C é uma qualidade característica da maçã positivamente associada com a sua atividade antioxidante. No entanto, enquanto os compostos fenólicos estão mais relacionados com a atividade antioxidante na epiderme, o ácido ascórbico está normalmente mais relacionado com este tipo de atividade na polpa do fruto (Drogoudi *et al.*, 2008). Adicionalmente, a vitamina C é termicamente instável, o que se traduz na sua fácil degradação quando sujeita à temperatura. (Savikin *et al.*, 2014). Por estas razões, seria expectável na determinação de ácido ascórbico nas farinhas de maçã e respectivos preparados de bolachas não encontrar ou encontrar em quantidades muito baixas este composto. O método espectrofotométrico utilizado nesta determinação não permitiu a determinação do teor deste antioxidante.

3.3 PARÂMETROS ENERGÉTICOS

Os parâmetros energéticos para as diferentes amostras de farinhas de maçã e preparados de bolachas foram calculados tendo em conta o teor calórico (kcal) de 4 kcal/g proteína, 4 kcal/g hidratos de carbono e 9 kcal/g de gordura (Anexo XIIV do Regulamento (UE) Nº 1169/2011); e o teor calórico de todos os ingredientes constituintes dos preparados, respectivamente (Tabela 3.8). Os valores calculados mostram uma diminuição do teor calórico dos preparados contendo farinha de maçã relativamente ao preparado controlo proveniente do fato de a farinha de maçã ter um teor energético inferior ao presente nas farinhas de trigo e de milho. Deste modo, conclui-se também que a farinha de maçã contribui para uma diminuição energética do produto final.

TABELA 3.8– Teor energético em kcal e kJ por 100g de produto

| | Teor Energético | |
|--------------------------------------|-----------------|------|
| | Kcal | KJ |
| T comercial | 343 | 1437 |
| TC | 353 | 1476 |
| TA | 336 | 1408 |
| TB | 302 | 1266 |
| Preparado com T comercial | 288 | 1204 |
| Preparado com TC | 290 | 1214 |
| Preparado com TA | 286 | 1197 |
| Preparado com TB | 277 | 1161 |
| Preparado sem farinha de maçã | 356 | 1126 |

3.4 ANÁLISE SENSORIAL

A análise sensorial é um dos factores mais importantes no desenvolvimento de um novo produto alimentar uma vez que é o sabor e textura do alimento que determinam toda a viabilidade dos recursos envolvidos no processo (Rupasinghe *et al.*, 2008).

3.4.1 PROVA EFETIVA

A análise sensorial foi realizada com as bolachas confeccionadas a partir de um preparado não contendo farinha de maçã (A), um preparado contendo farinha de maçã comercial (B) e um preparado contendo farinha de maçã biofortificada TB (C). Foram efectuados dois ensaios por meio de uma prova efetiva realizada com um painel de 33 e 41 provadores não treinados, respetivamente. Numa primeira prova as bolachas foram confeccionadas com a adição de 100 g de margarina e um ovo ao preparado enquanto na segunda a adição foi de 50 g de margarina e um ovo. Esta alteração foi feita depois de analisados os resultados da primeira prova com o intuito de melhorar os parâmetros mais prejudicados. Como se pode observar na figura 3.2, no 1º ensaio (ou 1ª prova), as bolachas contendo farinha de maçã (B) e (C) obtiveram uma avaliação francamente positiva nos parâmetros de aspecto, aroma e sabor. No entanto, a textura foi um parâmetro que desagradou a cerca de 80% do painel de provadores. Este facto deveu-se à baixa firmeza e crocância que esta bolacha apresentou e que se deve ao maior conteúdo em fibra dietética. Este resultado foi também descrito por Sudha e colaboradores (2008) num estudo realizado para determinar as características reológicas e de cozimento em bolos enriquecidos com subprodutos da indústria de maçãs. Estes autores observaram que a adição de mais de 30% de resíduos de maçã secos se reflecte numa diminuição da crocância da crosta e justificaram o resultado com o elevado teor de fibra proveniente da utilização da maçã que conduz a uma maior absorção de água. Por outro lado, e contrariamente às bolachas contendo farinha de maçã, as bolachas provenientes do preparado não contendo esta farinha tiveram uma avaliação positiva de quase a totalidade do painel no parâmetro da textura por ser uma bolacha mais crocante, apesar disso, em termos de sabor e aroma revelaram ser um produto empobrecido relativamente ao preparado contendo farinha de maçã. Na tentativa de obter um melhor resultado neste parâmetro foram efectuados alguns ensaios variando a quantidade de ingredientes adicionados. Realizou-se uma segunda prova que demonstrou uma franca melhoria (cerca de 80%) na textura das bolachas contendo farinha de maçã, não tendo havido uma diferença muito significativa na avaliação deste parâmetro nas bolachas controlo na primeira e segunda prova. Numa avaliação global aproximadamente 80% dos provadores preferem a bolacha contendo farinha de maçã. Da primeira para a segunda prova, cerca de 20% dos provadores parecem também ter percebido uma melhoria no aroma da bolacha com farinha de maçã não biofortificada. Apenas na primeira prova e apenas 20% dos provadores percecionaram diferenças entre a bolacha com farinha de maçã biofortificada e bolacha com farinha não biofortificada. Aqui, foi a bolacha com farinha de maçã biofortificada que agradou menos ao

painel no parâmetro do sabor. Este fato explica-se pela provável existência de bolachas mais ou menos tostadas que possam ter alterado o sabor do produto, pois a presença de cálcio em nada deve contribuir para este parâmetro.

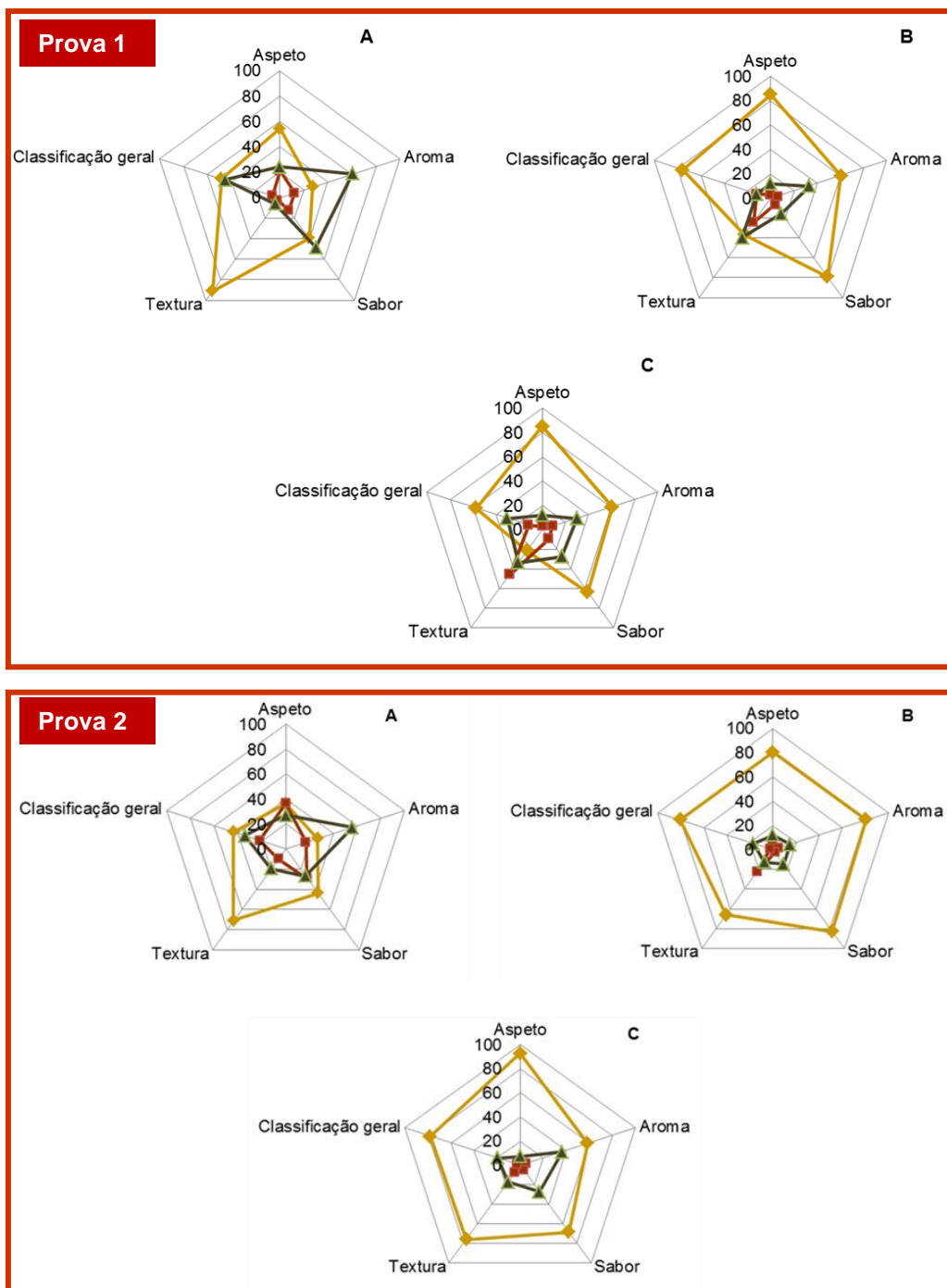


FIGURA 3.2 - Teste de preferência das bolachas elaboradas sem farinha de maçã (A), com farinha de maçã comercial (B) e com farinha de maçã TB (C). As linhas representam: — a % de provadores que gostaram/gostaram muito; — % de provadores que não gostaram/não gostaram nada; — % de provadores indiferentes. Prova 1 - painel de provadores não treinado de 33 indivíduos de ambos os sexos com idades compreendidas entre os 24 e os 67 anos. Prova 2 - painel de provadores não treinado de 41 indivíduos de ambos os sexos com idades compreendidas entre os 21 e os 59 anos.

3.4.2 AVALIAÇÃO DA INTENÇÃO DE COMPRA

Foram ainda avaliadas a intenção de compra e recomendação das bolachas confeccionadas com os diferentes preparados (figura 3.3 - A) e a predisposição do painel representativo do consumidor para pagar mais por um produto biofortificado em cálcio (figura 3.3 - B). Nos gráficos A observa-se que em ambas as provas, a maioria do painel compraria e recomendaria o preparado de bolachas biofortificadas em cálcio. No entanto esta intenção de compra/recomendação diminuiu aproximadamente 10% da primeira para a segunda prova em favor da bolacha não contendo farinha de maçã. Observamos também nos gráficos B da prova 1 e 2 que a maioria dos provadores está na disposição de pagar mais por um produto biofortificado em cálcio o que demonstra uma preocupação generalizada com a saúde.

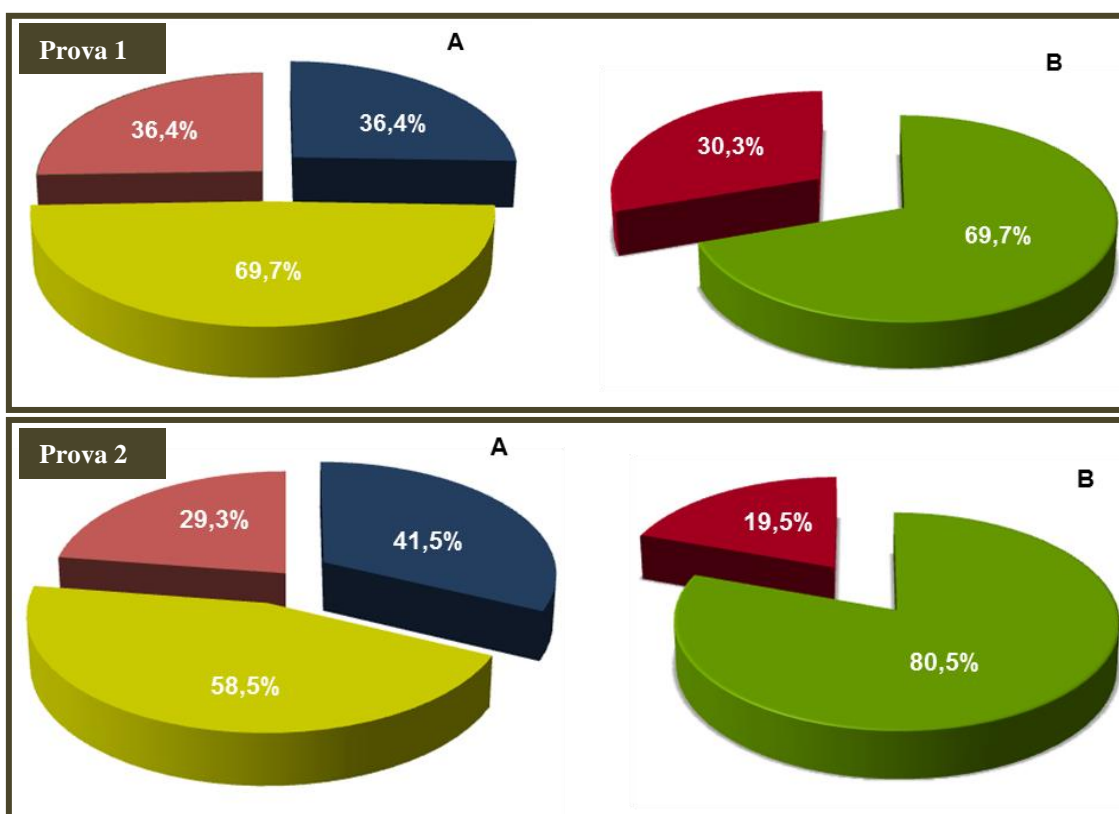


FIGURA 3.3 - Teste de aceitação das bolachas sem farinha de maçã, com farinha de maçã comercial e com farinha de maçã TB (A). Onde ■ representa % de provadores que comprariam/recomendariam a bolacha de maçã TB, ■ representa % de provadores que comprariam/recomendariam a bolacha de maçã comercial; ■ representa % de provadores que comprariam/recomendariam a bolacha sem maçã.

A disposição ou não de pagar mais por ser um produto biofortificado representa-se no gráfico B onde ■ representa o % de provadores dispostos a pagar mais pelo produto e ■ a % de provadores não dispostos a pagar mais pelo produto.

Prova 1 - painel de provadores não treinado de 33 indivíduos de ambos os sexos com idades compreendidas entre os 24 e os 67 anos. Prova 2 - painel de provadores não treinado de 41 indivíduos de ambos os sexos com idades compreendidas entre os 21 e os 59 anos.

3.4.3 PROVA SENSORIAL - CRIANÇAS

Dado que o público-alvo deste produto alimentar também são as crianças foi efectuada uma prova sensorial simples com um painel de provadores não treinados composto por 15 crianças com idades entre três e cinco anos onde foi apenas avaliado se gostavam ou não das bolachas de maçã. A grande maioria das crianças, 73,3%, manifestaram-se de forma positiva à pergunta 'Gostou?' tendo os restantes 26,7% sido distribuídos igualmente entre a resposta 'não gosto' ou 'não sei' (Figura 3.4).

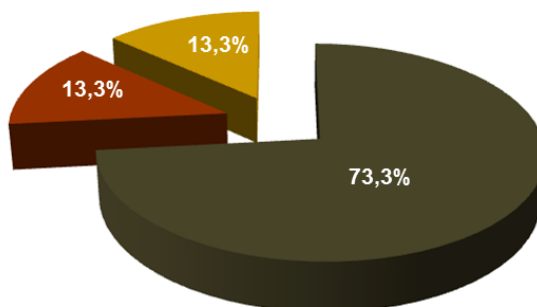


FIGURA 3.4 - Prova sensorial realizada a um painel de provadores não treinados com idades compreendidas entre os 3 e os 5 anos de idade. ■ representa a % de provadores que gostaram; ■ % de provadores que não gostaram e ■ % de provadores indiferentes.

3.4.4 PROVA DE DIFERENÇA-DO-CONTROLO

Foi ainda realizada uma prova para avaliar se eram percepcionadas diferenças entre bolachas confeccionadas partindo de um preparado fresco e de um preparado armazenado durante seis meses em lugar fresco e seco, de modo a deduzir o tempo de prateleira do produto final. Esta prova foi realizada nas mesmas condições ambientais da prova efetiva com um painel de provadores não treinado, de 41 indivíduos, de ambos os sexos, com idades compreendidas entre os 21 e os 59 anos. Nos três preparados de bolachas avaliados, com farinha de maçã comercial, com farinha de maçã TB e sem farinha de maçã (Figura 3.5), 75% a 95% dos provadores notaram uma diferença sensorial entre os preparados frescos e os preparados com seis meses. Desses, a maioria preferiu as bolachas provenientes do preparado fresco. Este estudo, conduz à conclusão de que, havendo alteração sensorial do preparado com seis meses, o tempo de prateleira terá de ser inferior a este período sendo necessário fazer mais estudos que permitam determinar com precisão o tempo de prateleira do produto final, nomeadamente avaliação microbiológica e físico-química. Deverá ser também testada, e com a finalidade de prolongar o tempo de prateleira, a utilização de outros materiais de embalagem de modo a que o acondicionamento do produto final garanta uma maior conservação das suas características de qualidade iniciais.

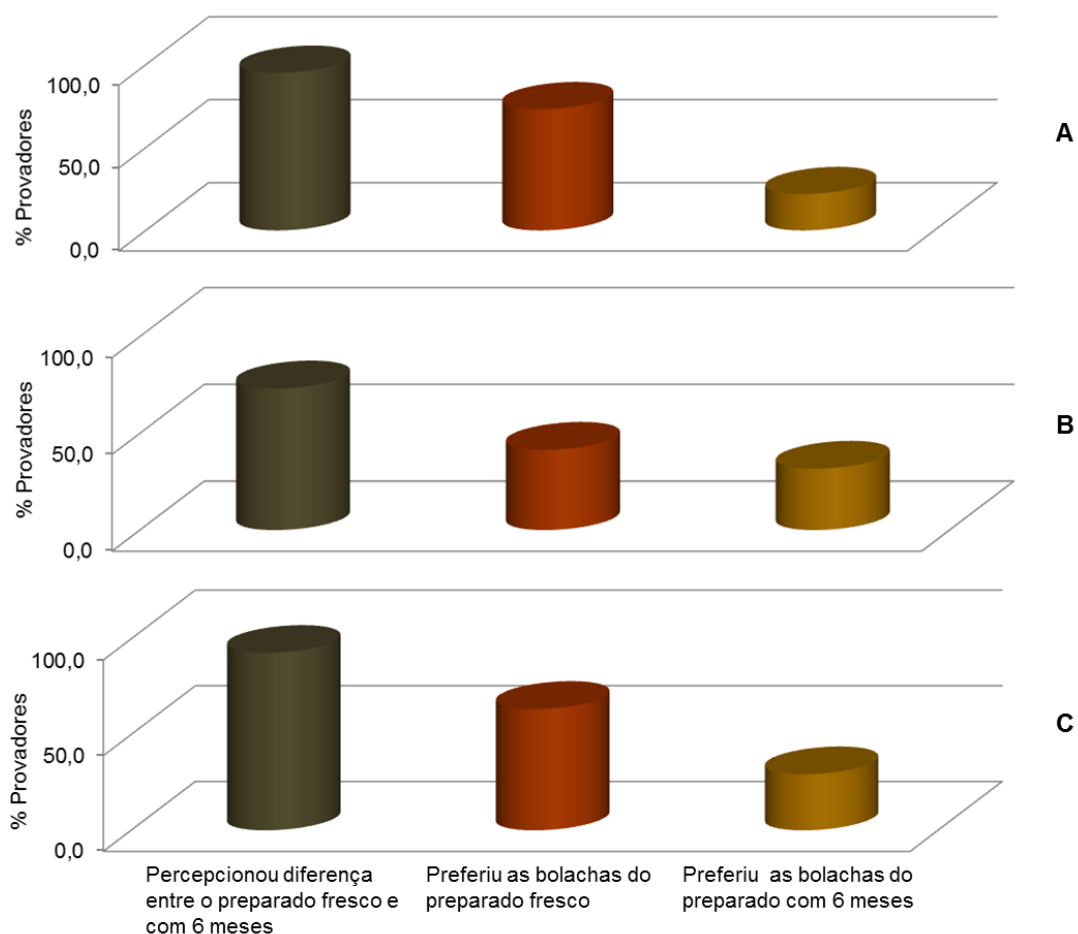


FIGURA 3.5 – Avaliação de preparados de bolachas frescos e armazenado por um período de 6 meses. Preparado de bolachas com farinha de maçã comercial (A), Preparado de bolachas com farinha de maçã TB (B), Preparado de bolachas sem farinha de maçã (C).

3.5 CONTROLO DE QUALIDADE DOS PREPARADOS DE BOLACHA

A colocação de um novo produto no mercado obriga à determinação de um tempo de prateleira (ou tempo de vida útil) que para além de garantir uma qualidade sensorial de excelência deve garantir a segurança do produto e do consumidor. Deste modo, os preparados das bolachas frescos e armazenados durante seis meses foram submetidos a um controlo de qualidade realizado por uma avaliação visual da embalagem, da farinha antes e depois da adição dos restantes ingredientes e das bolachas finais, de modo a complementar a prova de Avaliação por Diferença do Controlo. Esta análise de controlo de qualidade não substitui uma correcta avaliação microbiológica ao produto final de acordo com a legislação em vigor (Regulamento (CE) nº 1441/2007 da comissão de 5 de Dezembro de 2007; regulamento (CE) nº 2073/2005 da comissão de 15 de Novembro de 2005). O papel da embalagem interior, contendo o preparado com seis meses encontrava-se mais amachucado do que o dos preparados frescos, no entanto esta deterioração da embalagem é atribuída ao manuseamento necessário para transporte e armazenamento, não tendo sido afetada a sua integridade. Depois de aberta a embalagem, observaram-se, nos preparados contendo farinha de maçã

com seis meses, aglomerados de farinha de maçã enquanto nos preparados frescos o pó apresentava-se solto e homogeneamente distribuído (figura 3.6). Estes aglomerados são indicativos de absorção de humidade principalmente por parte da farinha de maçã, devido à sua elevada higroscopicidade, o que se pode traduzir num aumento de perecibilidade do produto com consequente reflexão na diminuição do tempo de prateleira. No entanto, em nenhum dos casos foi observada visual e/ou olfactivamente a presença de contaminação microbiológica. O aspeto final das bolachas não reflectiu nenhuma alteração visual quando comparada a bolacha confeccionada a partir do preparado com seis meses e fresco.



FIGURA 3.6 – Aspeto visual das embalagens contendo a formulação dos preparados de bolacha de maçã, da respectiva formulação e da bolacha obtida por confeção dessa preparação, fresca e com um tempo de seis meses de armazenamento em local seco e fresco.

3.6 EMBALAGEM E RÓTULO DO PRODUTO FINAL

A embalagem de um género alimentício e a respectiva rotulagem são, na verdade a carta de apresentação do produto alimentar sendo o primeiro fator que determina a decisão de compra de um determinado produto. Adicionalmente a rotulagem é também considerada um importante instrumento que permite ao consumidor uma escolha consciente e adequada de um determinado produto baseada numa informação clara e correcta. A sua função deve ainda estender-se à fase de conservação e modo de consumo do produto. Mais ainda, do ponto de vista do produtor e/ou vendedor, para além de uma ferramenta de rastreabilidade pode ser também encarada como uma plataforma para publicitar o produto.

A embalagem e rótulo do produto final são apresentados na figura 3.7 a título sugestivo. Os materiais de embalagem devem respeitar a legislação em vigor referente aos materiais e objectos destinados a entrar em contacto com os alimentos bem como as boas práticas de fabrico desses materiais (Regulamento (CE) nº 1935/2004; Regulamento (CE) nº 2023/2006). Do mesmo modo o rótulo deve apresentar-se de acordo com normas legais em vigor quer no que respeita às menções obrigatórias quer no que respeita às menções adicionais de rotulagem (Decreto-Lei nº 560/99; Decreto-Lei nº126/2005; Decreto-Lei nº 156/2008; Regulamento (CE) nº1169/20011). A rotulagem apresentada pretende ser o mais aproximado do exigido legalmente, não sendo ainda possível o cumprimento completo de todas as exigências requeridas uma vez que, principalmente no que respeita à rotulagem nutricional serão necessárias a realização de algumas determinações adicionais não contempladas na realização desta dissertação. Adicionalmente, foram efectuadas algumas estimativas, que apesar de cientificamente cimentadas, a sua determinação se considera legalmente imprescindível aquando o lançamento do produto no mercado.



A



B

Preparado em pó para Bolachas de Maçã biofortificadas em cálcio

INGREDIENTES: Farinha de TRIGO (36,3%) (GLUTEN), farinha de maçã (25%), açúcar (22,95%), amido milho, gordura vegetal palma hidrogenada, levedantes (bicarbonato sódio, pirofosfato de sódio), emulsionante (xarope de glucose (GLUTEN)), farinha de SOJA, E472b e E477), lecitina de SOJA, aroma (SULFITOS).

Pode conter: leite e produtos à base de LEITE (incluindo lactose), FRUTOS DE CASCA RIJA

| Informação Nutricional/100g | | | |
|-----------------------------|---------------------|--|-------------------------|
| Valor Médio | Por 100g de produto | Por 100g de produto preparado segundo o modo de preparação indicado na embalagem | Por porção (3 bolachas) |
| Valor energético | 283Kcal/1186KJ | 383Kcal/1597KJ | 134Kcal/559KJ |
| Gordura (g) | 6,2 | 16,7 | 6,9 |
| Hidratos de Carbono (g) | 57,2 | 78,1 | 27,4 |
| Dos quais açúcares (g) | 39,8 | 39,8 | 13,9 |
| Fibras (g) | 4,0 | 4,0 | 1,4 |
| Proteína (g) | 3,5 | 5,6 | 2,0 |
| Cálcio (mg) | 42,4 | 49,7 | 17,4 |
| Ferro (mg) | 1,1 | 1,5 | 0,5 |
| Sal (g) | 0,39 | 1,4 | 0,47 |

MODO DE PREPARAÇÃO:

Pré-aqueça o forno a 200°C e forre dois tabuleiros com papel vegetal.

Junte num recipiente o ovo, o conteúdo da saqueta e 50 g de margarina cortada em pequenos pedaços. Misture bem até juntar todos os ingredientes.

Estique a massa, com o auxílio de um rolo numa superfície plana previamente polvilhada com farinha.

Corte a massa em círculos de cerca de 7 cm de diâmetro e coloque no tabuleiro previamente forrado com papel vegetal.

Leve ao forno durante cerca de 8 minutos.

Cada saqueta contendo 350g equivale a cerca 30 bolachas de 7 cm de diâmetro.

Manter em lugar seco e fresco

PRODUZIDO E DISTRIBUÍDO POR:

Condi Alimentar

Rua do Ferro, Quinta dos Palmares

2680-459 Camarate

Portugal

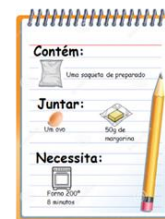
SERVIÇO DE INFORMAÇÃO AO CONSUMIDOR:

comercial@condi.pt

qualidade@condi.pt

Telefone: +351 21 948 43 90

Fax: +351 21 947 91 82



C

LOT:23032016

FIGURA 3.7– Aspeto visual final sugerido para a embalagem e rótulo do preparado de bolachas de maçã biofortificadas em cálcio, onde A é a embalagem, B a rotulagem que figura na lateral da embalagem e C a embalagem interior contendo o preparado com a menção do respectivo número de lote impresso.

4 CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS FUTURAS

O desenvolvimento do produto alimentar em questão, preparado de bolachas contendo uma farinha produzida a partir de epidermes resultantes do processamento industrial da maçã, parece trazer grandes vantagens quer do ponto de vista da sustentabilidade quer do ponto de vista nutricional. Este último deve-se ao facto de a epiderme da maçã apresentar uma riqueza nutricional mais elevada, quando comparada com a polpa do fruto, quer em termos de compostos antioxidantes quer em teores de fibra dietética. Adicionalmente, uma outra mais valia é aqui aproveitada uma vez que as epidermes são provenientes de maçãs biofortificadas em cálcio e se sabe que a maior concentração deste mineral é acumulado na epiderme e nas camadas de polpa que lhe estão mais próximas (resultados não publicados). Os teores de humidade, cinzas, proteína e gordura determinados nos preparados contendo 0% e 25% de farinha de maçã demonstraram não haver uma diferença nutricional acentuada entre eles apesar de essas diferenças existirem e existirem mais em uns parâmetros que em outros. Por outro lado, analisando outros parâmetros de elevado valor nutricional como o teor de fibra dietética observa-se que, enquanto no preparado não contendo farinha de maçã não foi detetada a presença de fibra dietética, o preparado contendo farinha de maçã apresentou um teor destas fibras de cerca de 4 mg/100g de produto. Similarmente, também o teor em compostos fenólicos totais foi maior no preparado contendo 25% de farinha de maçã, uma média de 110 mg EAG/100 g de produto, um valor 4,5 vezes superior do que o determinado no preparado controlo (24 mg EAG/100 g produto). Ainda no parâmetro cálcio, se verificou ser que o preparado contendo farinha de maçã é em 30% mais rico neste mineral que o controlo (42 mg/100 g e 32,3 mg/100 g, respectivamente). Adicionalmente, e para além das melhorias nutricionais provenientes da utilização da farinha de maçã no preparado de bolachas, também a análise sensorial revelou ser o produto contendo farinha de maçã, um produto mais atrativo em termos organolépticos do que o produto controlo.

Deste modo, a utilização de uma farinha produzida a partir da epiderme de maçãs biofortificadas em cálcio, resultantes da indústria de produção de néctares e polpas revela um elevado potencial para a saúde do consumidor dado pelo elevado conteúdo em fibra alimentar e em compostos antioxidantes. Estes resultados, juntamente com o potencial sensorial desta farinha, comprovam que este subproduto tem um elevado valor tecnológico e nutricional para ser usado como substituto parcial da farinha de trigo no desenvolvimento de novos produtos alimentares como o produto desenvolvido no âmbito desta dissertação.

Futuramente prevê-se a realização de ensaios de bioacessibilidade, utilizando o processo de digestão gastrointestinal simulada (digestão *in vitro*), e de biodisponibilidade combinando a técnica anteriormente descrita com ensaios de bioassimilação em linhas celulares de cólon humano (Caco-2), de modo a determinar e comprovar a solubilização durante o processo digestivo dos diversos minerais provenientes da matriz do alimentos e a sua real capacidade para serem absorvidos e, assim, poderem exercer os seus efeitos

benéficos no organismo humano. Estes estudos incidirão particularmente no cálcio uma vez que o se pretende alegar que o produto final é rico neste elemento.

Adicionalmente, pretende-se também realizar um estudo tecnológico mais detalhado no que se refere ao método mais eficaz e viável economicamente para a recolha da epiderme das maçãs da indústria de néctares e polmes.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acosta-Estrada B.A., Gutiérrez-Urbe J.A. e Serna-Saldívar S.O. (2014) Bound Phenolics in Foods, a Review. *Food Chemistry* 152:46-55.
- Aguedo M., Kohnen S., Rabetafika N., Bossche S. V, Sterckx J., Blecker C., Beauve C. e Paquot M. (2012) Composition of by-products from cooked fruit processing and potential use in food products, *Journal of Food Composition and Analysis* 27, 61-69.
- Aiking H e Boer J. (2004), Food sustainability Diverging interpretations. *British Food Journal*, Vol. 106 Nº 5, 359-365.
- Almeida D.P.F., Pintado M., Malcata F.X. (2008) Valor nutritivo e composição fitoquímica de variedades de maçã de alcobaça. Centro de Biotecnologia e Química Fina, Escola Superior de Biotecnologia, Universidade Católica Portuguesa, Porto, 28 p.
- Anderson J.M., Baird P., Davis Jr R.H., Ferreri S., Knudtson M., Koraym A., Waters V. e Williams C.I. (2009) Health Benefits of Dietary Fiber, *Nutrition Reviews* 67(4):188-205.
- AOAC (1990) Official Methods of Analysis. Agricultural Chemicals; Contaminants; Drugs. Volume I, 15th Ed. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, EUA.
- Barrett D.M., Beaulieu J.C. e Shewfelt R. (2010) Color, Flavor, Texture, and Nutritional Quality of Fresh-Cut Fruits and Vegetables: Desirable Levels, Instrumental and Sensory Measurement, and the Effects of Processing. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 50:369–389.
- Bilgiçli N., Ibanoglu S. e Herken E.N. (2007) Effect of Dietary Fiber on the Selected Nutritional Properties of Cookies. *Journal of Food Engineering* 78:86-89.
- Bonini S., Gorner S. e Jones A. How Companies Manage Sustainability. McKinsey Global Survey Result, 2010
- Boyer J. e Li R.H. (2004) Apple phytochemicals and their health benefits. *Nutrition Journal* 3(5):1-15.
- Brundtland, G.H. (1987), Report of the World Commission on Environment and Development: Our Common Future, Oxford University Press.
- Carvalho S.M.P. e Vasconcelos M. W. (2013) Producing more with less: Strategies and novel technologies for plant-based food biofortification, *Food Research International* 54:961-971.
- Chakespari A.G, Rajabipour A. e H. Mobli (2010) Comparison of mechanical properties of two apple varieties under compression loading. CIGR XVIIth World Congress – Québec City, Canada – June 13-17.
- Chen H., Rubenthaler G.L., Leung H.K., e Baranowski J.D. (1998) Chemical, Physical, and Baking Properties of Apple Fiber Compared with Wheat and Oat Bran. *Cereal Chemistry* 65(3):244-247.
- Clube da Maçã de Alcobaça, 2016, <http://clubedamaca.pt/>, em 18, 19 e 20 de Fevereiro de 2016.

- Connolly E. L. (2008) Raising the bar for biofortification: enhanced levels of bioavailable calcium in carrots. *Trends in Biotechnology* 26(8):401-403.
- Costa F. (2016) Mechanical investigation to assess the peel contribution in apple fruit. *Postharvest Biology and Technology* 111:41–47.
- Crozier A., Jaganathb I. B. e Cliffordc M. N. (2009) Dietary Phenolics: Chemistry, Bioavailability and Effects on Health. *Natural Product Reports* 26(8):965–1096.
- Dayod M., Tyerman S. D., Leigh R. A. e Gilliam M. (2010) Calcium storage in plants and the implications for calcium biofortification. *Springer-Verlag*, 215-231.
- Dayod M., Tyerman S.D., Leigh R.A. e Gilliam M. (2010) Calcium storage in plants and the implications for calcium biofortification. *Protoplasma* 247:215–231.
- Dobrzański jr. B., Rabcewicz J. e Rybczyński R. (2006) Handling of Apple transport techniques and efficiency vibration, damage and bruising texture, firmness and quality. Centre of Excellence AGROPHYSICS for Applied Physics in Sustainable Agriculture, Institute of Agrophysics Polish Academy of Sciences.
- Dobrzański, jr B. e Rybczyński R. (2002) Colour change of apple as a result of storage, shelf-life, and bruising. *International Agrophysics*, 16:261–268.
- Drogoudi P.D., Michailidis Z. e Pantelidis G. (2008) Peel and flesh antioxidant content and harvest quality characteristics of seven apple cultivars. *Scientia Horticulturae* 115:149–153.
- Eberhardt M.V, Lee C.Y., Liu R.H. (2000) Antioxidant activity of fresh apples. *Nutrition* 405:903-904.
- Ferguson L.R. (2001). Role of plant polyphenols in genomic stability. *Mutation Research*, 475:89–111.
- Ferreira C.J.M. (2011) Caracterização físico-química de variedades de maçãs de Carrazeda de Ansiães. Dissertação de Mestrado em Biotecnologia e Qualidade Alimentar, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Vila Real.
- Ferreira, I. e Abreu, R. (2007). Stress oxidativo, antioxidantes e fitoquímicos. *Bioanálise*, 2:32-39.
- Feskanich D., Ziegler R.G., Michaud D.S., Giovannucci E.L., Speizer F.E., Willett W.C., Colditz G.A. (2000) Prospective Study of Fruit and Vegetable Consumption and Risk of Lung Cancer Among Men and Women. *Journal of the National Cancer Institute* 92(22):1812-1823.
- Figuerola F., Hurtado M.L., Estévez A.M., Chiffelle I. e Asenjo F. (2004) Fibre concentrates from apple pomace and citrus peel as potential fibre sources for food enrichment. *Food Chemistry* 91:395–401.
- Gerbens-Leenes P.W., Moll H.C. e Schoot Uiterkamp A.J.M, (2003). Design and development of a measuring method for environmental sustainability in food production systems. *Ecological Economics* 46:231-248.
- Gorinstein S., Zachwieja Z., Foltá M., Barton H., Piotrowicz J., Zemser M., Weisz M., Trakhtenberg S. e Martín-Belloso O. (2001) Comparative Contents of Dietary Fiber, Total Phenolics, and Minerals in Persimmons and Apples. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49:952-957.

Halliwel B., Aeschbach R., Löliger J. e Aruoma OI (1995) The characterization of antioxidants. *Food and Chemical Toxicology*, 33(77):601–617.

Henríquez C., Speisky H., Chiffelle I., Valenzuela T., Araya M., Simpson R. e Almonacid S. (2010), Development of an ingredient containing apple peel, as a source of polyphenols and dietary fiber, *Journal of Food Science* 75:172-181.

Huber G.M. e Rupasinghe H.P.V. (2009). Phenolic profiles and antioxidant properties of apple skin extracts. *Journal of food science* 74(9):693-700.

Hudina M. e Stampar F. (2000) Sugars and organic acids contents of European (*Pyrus communis* L.) and Asian (*Pyrus serotina* Rehd.) pear cultivars”, *Acta Alimentaria*, 29:217–230

Iglesias I., Echeverriab G. e Lopezc M.L. (2012) Fruit color development, anthocyanin content, standard quality, volatile compound emissions and consumer acceptability of several ‘Fuji’ apple strains. *Scientia Horticulturae* 137:138–147.

INSA (2007), Tabela da Composição de Alimentos, 1.^a Edição, Centro de Segurança Alimentar e Nutrição Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge, Editorial do Ministério da Educação.

Jones J.M. (2014) Codex-aligned fiber definition help to bridge the ‘fiber gap’. *Nutrition Journal* 13:34.

Kaushik R., Sachdeva B., Arora S., Kapila S. e Wadhwa B.K. (2014) Bioavailability of vitamin D2 and calcium from fortified milk. *Food Chemistry* 147:307–311.

Kloppenborg J., Lezberg S., De Master K., Stevenson G.W. e Hendrickson J. (2000), “Tasting food, tasting sustainability: defining the attributes of an alternative food system with competent, ordinary people”, *Human Organization*, 59(2):177-86.

Laufenberg G., Kunz B. e Nystroem M. (2003) Transformation of vegetable waste into value added products: (A) the upgrading concept; (B) practical implementations, *Bioresource Technology* 87:167-198.

Leontowicz H., Leontowicz M., Gorinstein S., Martin-Belloso O. e Trakhtenberg S. (2007) Apple peels and pulp as a source of bioactive compounds and their influence on digestibility and lipid profile in normal and atherogenic rats, *Medycyna Weterynaryjna* 63(11):1434-1436.

Meenakshi J.V., Johnson N. L., Manyong V. M., Degroote H., Javelosa J., Yanggen D.R., Naher F., Gonzalez C., García J. e Meng E. (2010) How Cost-Effective is Biofortification in Combating Micronutrient Malnutrition? An Ex ante Assessment, *World Development*, 38:64-75.

Mirabella N., Castellani V. e Sala S. (2014) Current options for the valorization of food manufacturing waste: a review, *Journal of Cleaner Production* 65:28-41.

Nestel P., Bouis H. E., Meenakshi J. V. e Pfeiffer W. (2006) Biofortification of Staple Food Crops, *The Journal of Nutrition*, 136:1064-1067.

Nielsen SS (2009) Carbohydrate Analysis. In 4th Edition, Food Analysis, pp. 147-177. West Lafayette: Springer.

Nielsen SS (2009) Fat Analysis. In 4th Edition, Food Analysis, pp. 117-132. West Lafayette: Springer.

Nielsen SS (2009) Moisture and Total Solids Analysis. In 4th Edition, Food Analysis, pp. 85-104. West Lafayette: Springer.

Nielsen SS (2009) Protein Analysis. In 4th Edition, Food Analysis, pp. 133-146. West Lafayette: Springer.

O'Shea N., Arendt E.K. e Gallagher E. (2012) Dietary fiber and photochemical characteristics of fruit and vegetables by-products and their recent applications as novel ingredients in food products. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 16:1-10.

O'Shea N., Ktenioudaki A., Smyth T.P., McLoughlin P., Doran L., Auty M.A.E., Arendt E. e Gallagher E. (2015) Physicochemical assessment of two fruit by-products as functional ingredients: Apple and orange pomace. *Journal of Food Engineering* 153:89–95.
of apple skin extracts. *Journal of Food Science* 74:693-700.

Ötles S. e Ozgoz S. (2014) Health effects of dietary fiber. *ACTA Scientiarum Polonorum, Technologia Alimentaria* 13(2):191-202.

Pais I., Ramos A., Barreiro M. e Silva M. (2008) Sugar variation in 'Rocha' pears and *Penicillium expansum* reduction by *Aureobasidium pullulans*. *Acta horticulturae*, 800:929-934.

Rafferty K., Walters G. e Heaney R.P. (2007) Calcium Fortificants: Overview and Strategies for Improving Calcium Nutrition of the U.S. Population. *Journal of Food Science* 72(9):152-158

Reid, M. S. 2002. Maturation and maturity indices. In Kader A. A. (Editor). Postharvest technology of horticultural crops. Third edition University of California, Agriculture and Natural Resources, Publication 3311, Oakland, pp. 55 - 62.

Rupasinghe H.V.P., Wang L., Huber G.M. e Pitts N.L. (2008) Effect of baking on dietary fiber and phenolics of muffins incorporated with apple skin powder. *Food Chemistry* 107:1217-1224.

Saltzman A., Birol E., Bouis H. E., Boy E., De Moura F. F., Islam Y. e Pfeiffer W. H. (2013) Biofortification: Progress toward a more nourishing future, *Global Food Security* 2, 9-17.

Šavikin K., Zivkovic J., Zdunic G., Gopevac D., Đorđević B., Dojcinovic B. e Đorđević N. (2014) Phenolic and mineral profiles of four Balkan indigenous apple cultivars monitored at two different maturity stages. *Journal of Food Composition and Analysis* 35:101–111.

Schieber A., Stintzing F.C. e Carle R. (2001) By-products of plant food processing as a source of functional compounds – recent developments, *Trends in Food Science & Technology* 12: 401-413.

Simões D.R.S., Waszczynskyj N. e Wosiacki G. (2009) Aromas em maçãs, suco e sidra: revisão. *B.CEPPA, Curitiba* 27(1):153-172.

Soto A.M., Morales P., Haza A.I., García M.L. e Selgas M.D. (2014) Bioavailability of calcium from enriched meat products using Caco-2 cells. *Food Research International* 55:263–270.

Sudha M.L., Baskaran V. e Leelavathi K. (2007) Apple pomace as a source of dietary fiber and polyphenols and its effect on the rheological characteristics and cake making. *Food Chemistry* 104:686–692.

Suni M, Nyman M., Eriksson N., Björk L. e Björck I. (2000) Carbohydrate composition and content of organic acids in fresh and stored apples. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 80:1538-1544.

Tabela de Composição de Alimento do Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, www.insa.pt, em 04 de Março de 2016.

Tilman D., Cassman K.G., Matson P.A., Naylor R. e Polasky S. (2002). Agricultural sustainability and intensive production practices. *Nature* 418, 671-677.

Ting V.J.L., Romano A., Silcock P., Bremer P.J., Corollaro M.L., Soukoulis C., Cappellin L., Gasperi F. e Biasioli F. (2015) Apple flavor: Linking sensory perception to volatile release and textural properties. *Journal of Sensory Studies* 30:195–210.

Tunland B.C. e Meyer D. (2002) Nondigestible Oligo- and Polysaccharides (Dietary Fiber): Their Physiology and Role in Human Health and Food. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 3:90-109.

Van Dyk J.S., Gama R., Morrison D., Swart S. e Pletschke B.I. (2012) Food processing waste: Problems, current management and prospects for utilization of the lignocellulose component through enzyme synergistic degradation, *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 26:521-531.

Vavrusova M., Skibsted L. H. (2014) Calcium nutrition. Bioavailability and fortification. *Food Science and Technology* 59:1198-1204.

White P.J. e Broadley M.R. (2009) Biofortification of crops with seven mineral elements often lacking in human diets – iron, zinc, copper, calcium, magnesium, selenium and iodine. *New Phytologist* 182:49–84.

Wolfe K.L. e Liu R. H. (2003) Apple Peels as a Value-Added Food Ingredient, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 1676-1683.

Wu J., Gao H., Zhao L., Liao X., Chen F., Wang Z. e Hu X. (2007) Chemical compositional characterization of some apple cultivars. *Food Chemistry* 103:88–93.

Zhang Y, Li P. e Cheng L. (2010) Developmental changes of carbohydrates, organic acids, amino acids, and phenolic compounds in ‘Honeycrisp’ apple flesh. *Food Chemistry* 123:1013–1018.

5.1 LEGISLAÇÃO

Decreto-Lei n.º 156/2008 de 7 de Agosto. transpõe, para a ordem jurídica interna, a Directiva n.º 2007/68/CE, da Comissão, de 27 de Novembro, alterando -se, deste modo, o anexo III do Decreto -Lei n.º 560/99, de 18 de Dezembro, na redacção que lhe foi dada pelos Decretos -Leis n.os 126/2005, de 5 de Agosto, 195/2005, de 7 de Novembro, e 365/2007, de 2 de Novembro. Diário da República, 1.ª série — N.º 152 — 7 de Agosto de 2008, 5329-5331.

Decreto-Lei nº 126/2005 de 5 de Agosto. Transpõe para a ordem jurídica interna a Directiva n.º 2003/89/CE, do Parlamento Europeu e do Conselho, de 10 de Novembro, que altera a Directiva n.º 2000/13/CE, relativamente à indicação dos ingredientes presentes nos

gêneros alimentícios, e altera o Decreto-Lei n.º 560/99, de 18 de Dezembro. Diário da República — I série -A No 150 — 5 de Agosto de 2005, 4518-4521.

Decreto-lei n.º 560/99, de 18 de Dezembro, que estabelece as regras a que deve obedecer a rotulagem, apresentação e publicidade dos géneros alimentícios, sejam ou não pré-embalados, a partir do momento em que se encontram no estado em que vão ser fornecidos ao consumidor final, bem como as relativas à indicação do lote, Diário da República — I série -A No 293 de 18 de Dezembro de 1999, 9049- 9058.

Regulamento (CE) N.º 1924/2006 do Parlamento Europeu E do Conselho de 20 de Dezembro de 2006 relativo às alegações nutricionais e de saúde sobre os alimentos. Jornal Oficial da União Europeia, L12 de 18 de Janeiro de 2007, 3-18.

Regulamento (CE) n.º 1935/2004 do parlamento europeu e do conselho, de 27 de Outubro de 2004, relativo aos materiais e objectos destinados a entrar em contacto com os alimentos e que revoga as Directivas 80/590/CEE e 89/109/CEE. Jornal Oficial da União Europeia L338, de 13 de Novembro de 2004,4-17.

Regulamento (CE) n.º 2023/2006 da comissão de 22 de Dezembro de 2006 relativo às boas práticas de fabrico de materiais e objectos destinados a entrar em contacto com os alimentos. Jornal Oficial da União Europeia, L 384 de 29 de Dezembro de 2006, 75-78.

Regulamento (CE) n.º 2073/2005 da comissão de 15 de Novembro de 2005 relativo a critérios microbiológicos aplicáveis aos géneros alimentícios. Jornal Oficial da União Europeia, L 338 de 22 de Dezembro de 2005, 1-26.

Regulamento (CE) n.º1441/2007 da comissão de 5 de Dezembro de 2007 que altera o Regulamento (CE) n.º 2073/2005 relativo a critérios microbiológicos aplicáveis aos géneros alimentícios. Jornal Oficial da União Europeia, L 322 de 7 de Dezembro de 2007, 12-29.

Regulamento (UE) N.º 1169/2011 do Parlamento Europeu e do Conselho de 25 de Outubro de 2011 relativo à prestação de informação aos consumidores sobre os géneros alimentícios, incluindo a declaração nutricional e a rotulagem de certas substâncias ou produtos que provocam alergias ou intolerâncias. Jornal Oficial da União Europeia, L 304 de 22 de Novembro de 2011, 18-63.

Regulamento (UE) N.º 432/2012 da Comissão de 16 de maio de 2012 que estabelece uma lista de alegações de saúde permitidas relativas a alimentos que não referem a redução de um risco de doença ou o desenvolvimento e a saúde das crianças. Jornal Oficial da União Europeia, L 136 de 25 de Maio de 2012, 1-40.

6 ANEXOS

Folha de Avaliação Sensorial

Nome: _____

Data: _____

Sexo: M ☐ F ☐

Idade: _____

Produto: Bolacha de Maçã Biofortificada em Cálcio

Procedimento: Receberá três amostras de bolachas codificadas com as letras A, B e C. Utilizando a escala fornecida, avalie cada uma das amostras com o número que melhor se adequa à sua opinião.

1-Não gostei nada

2-Não gostei

3-Indiferente (não gostei nem desgostei)

4-Gostei

5-Gostei muito

| Amostra | Aspetto | Aroma | Sabor | Textura | Classificação geral |
|---------|---------|-------|-------|---------|---------------------|
| A | | | | | |
| B | | | | | |
| C | | | | | |

Responda às seguintes questões:

Compraria este tipo de produtos?

Sim ☐ Não ☐

Qual/Quais?

A ☐ B ☐ C ☐

Recomendaria este tipo de produtos?

Sim ☐ Não ☐

Qual/Quais?

A ☐ B ☐ C ☐

Estaria disposto a pagar mais por ser um produto biofortificado? Sim ☐ Não ☐

Comentários (Explique as principais razões pelas quais gostou ou não gostou dos produtos):

Obrigada pela sua participação.

Folha de Avaliação Sensorial

Nome: _____

Data: _____

Sexo: M ☐ F ☐

Idade: _____

Produto: Bolacha de Maçã Biofortificada em Cálcio

Procedimento: Receberá seis amostras de bolachas codificadas com as letras A1, A2, B1, B2, C1 e C2. Indique se notou diferença entre as amostras assinalando com um X a opção escolhida.

Amostra A1 e A2 Sim ☐ Não ☐

Amostra B1 e B2 Sim ☐ Não ☐

Amostra C1 e C2 Sim ☐ Não ☐

Se respondeu sim, diga qual das amostras gostou mais.

Amostra A1 ☐ ou Amostra A2 ☐

Amostra B1 ☐ ou Amostra B2 ☐

Amostra C1 ☐ ou Amostra C2 ☐

Comentários:

Obrigada pela sua participação.

